

CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞 在心脏移植中的研究进展

丁志威^a(综述), 林 峰^b, 黄雪珊^b(审校)

(福建医科大学 a. 附属协和临床学院心外科; b. 附属协和医院心外科, 福州 350001)

关键词: CD4⁺CD25⁺ Foxp3⁺ Treg; 心脏移植; 免疫耐受

中图分类号: R654.2; R392.1

文献标志码: A

文章编号: 1009—8194(2011)02—0130—03

心脏移植是目前治疗终末期心脏病的有效措施, 自从 1905 年 Careel 用小狗心脏移植于大狗颈部获得成功, 并因此获得 1912 年诺贝尔医学奖后, 人们就在不断地探索心脏移植的免疫耐受问题。而近年来研究发现 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 是重要的免疫调节性细胞^[1], 且在心脏移植免疫耐受机制中成为研究热点。本文就 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 在心脏移植中的研究进展综述如下。

1 既往心脏移植免疫耐受机制研究的相关理论

1) 嵌合体理论: 1992 年美国匹兹堡大学器官移植中心的 Starzl 等报道, 在同种器官移植成功的长期存活的受者体内存在供者来源的 T 细胞, 即“微嵌合体”, 其中部分受者长期停用免疫抑制药物而未发生免疫排斥反应, 说明其获得了对特异器官的特异免疫耐受。据此, T. E. Starzl^[2] 提出了淋巴细胞的双向迁移移植排斥理论, 即嵌合体理论。2) 克隆清除: 每一个克隆细胞都具有其特异的、能与相应抗原决定簇起反应的受体。现已知大量未成熟的自身反应性 T 细胞在胸腺内因接触相应的自身抗原后发生程序性死亡而被清除, 这是形成自身免疫耐受的有效机制, 而嵌合体中的供者细胞在受者胸腺经阴性选择, 能识别自身和供者抗原的反应性 T 细胞, 停止发育并凋亡而清除, 即自身反应性和供者反应性 T 细胞均被克隆清除。3) 克隆无能: 系指淋巴细胞接触或识别外来抗原后, 由于共刺激信号的缺乏而不能被完全活化, 因而对抗原产生无应答现象, 即 T、B 细胞的活化需要第一、第二信号的共同参与, 当供体细胞中某些表达 MHC-II 分子的表面缺乏第二信号, 其结果不但不能激活 T 细胞, 反而使 T 细胞处于无应答状态, 即克隆无能, 从而诱导免疫

耐受。4) 否决细胞: 是一类特殊的抗原递呈细胞, 其表面表达 CD8, 富含与骨髓、外周血和胸腺, 当供体血或骨髓输入受体后, 供体的否决细胞表面抗原被受体细胞毒性 T (Cytotoxic T, CTL) 所识别, 可释放面或信号破坏 CTL, 而 CTL 被公认在移植排斥反应中起重要作用, 当 CTL 被否决细胞杀灭, 则意味着抑制了排斥反应的发生, 从而诱导周围的免疫耐受^[3]。5) NK 细胞的同种反应性: 有研究表明, 造血干细胞移植供受者间某些 HLA-I 类位点错配可诱导 NK 细胞成为同种反应性 NK 细胞, 它能杀伤不被其表面杀伤细胞免疫球蛋白样受体识别的受者造血干细胞和树突状细胞, 阻止移植抗原递呈给受者 T 细胞, 从而延长移植物的存活期^[4]。

2 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 的生物特性

CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 调节性 T 细胞由 S. Sakaguchi 等^[5] 于 1995 年首次报道, 根据其来源和作用机制的不同, 可分为天然 CD4⁺ CD25⁺ Treg 和获得性 CD4⁺ CD25⁺ Treg。前者主要是指在胸腺发育成熟后进入外周淋巴组织的 CD4⁺ CD25⁺ Treg, 在预防自身免疫反应方面起作用。而后者是由成熟 T 细胞诱导产生的, 在微生物感染和移植免疫中起作用。CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 占正常人的外周血及脾组织 CD4⁺ T 淋巴细胞的 5%~10%, 在外周血中, 通过抗原刺激, 可以将 CD4⁺ CD25⁻ Foxp3⁻ Treg 转化为诱导型 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg, 同样具有自然 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ Treg 的免疫调节特性^[6], 而抗原诱导的 Treg 来源于 CD4⁺ CD45RO⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ 记忆型 T 淋巴细胞; Treg 表面还有 CD4⁺、CD25^{high}、CD122、CD103、CD45RB、CTLA-4、CD134、CD62L 等表面标志物, 而研究表明 FOXP3⁺ 叉头状或翅膀状螺旋转录因

子(Foxp3⁺)是 T_{reg} 特异性表达的转录因子,成为 T_{reg} 的一个独特标志^[7],且 CD4⁺CD25⁺T_{reg} 的分化发育受转录因子 Foxp3 调控,用携带 Foxp3 的逆转录病毒载体向初始 CD4⁺T 细胞导入 Foxp3,可使初始 CD4⁺T 细胞向 CD4⁺CD25⁺T_{reg} 转化,其主要作用是抑制自身反应性 T 细胞的增殖^[8]。最近研究证明 IL-7 受体(CD127)的下调可以从活化的 T 细胞中区别调节性 T 细胞^[9],推动 T_{reg} 细胞的纯化和帮助认识它们在人类疾病中的功能特点。

3 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 的作用机制

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 具有免疫无能及免疫抑制两大功能^[10],其作用相关研究较多,但结论尚不一致,目前认为其作用机制主要在以下几方面。

3.1 通过细胞间的接触调节

活化的 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 主要通过细胞接触抑制的方式抑制 T 细胞的活化和增殖,其机制在于 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 表达 CTLA-4,该分子与活化的 T 细胞表面的 B7 分子结合后抑制 T 细胞的增殖和活化^[11]。也有观点认为,激活的 T_{reg} 可以杀伤 CD4⁺及 CD8⁺T 细胞,CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 表达 CTLA-4 与树突状细胞的表面 CD80/CD86 结合,产生吡啶胺-2,3-双氧酶,此酶可以降解色氨酸,色氨酸的降解可以减少 T 细胞的活化及降解活化 T 细胞^[12]。

3.2 通过细胞因子调节

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 可通过分泌细胞因子 IL-10、TGF-β 发挥免疫抑制作用,IL-10 的免疫抑制作用主要是通过抑制 IL-2 的产生以及延长细胞增殖周期和下调 MHC-II 类分子、单核细胞 CD80、CD86 的表达、下调 T 细胞共同刺激分子 CD28 的配体等方式直接或间接的作用于 T 细胞,从而降低抗原特异性 T 细胞增殖。特异性抗 TGF-β 抗体能阻断 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 的抑制效应;另外 IL-2、IL-2 受体对于 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 发挥功能是必不可少的因素,IL-2、IL-2 受体缺乏的大鼠易出现 T 细胞的过度增生,至致死性自身免疫性疾病发生^[13]。

3.3 通过细胞间的竞争

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 可通过与其他细胞群落之间的相互制约达到平衡。在自身免疫性疾病中,效应性 T 细胞与调节性 T 细胞在空间占位、能源、细胞因子及协同刺激信号等方面存在竞争现象,从而实现二者数量及功能上的某种动态平衡。

粒酶 A,在细胞直接接触基础上,通过穿孔素依赖的细胞毒作用杀伤多种自体靶细胞,包括 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞、CD14⁺单核核细胞及树突状细胞^[14]。

3.5 其他

研究还发现,CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 可以下调抗原递呈细胞,使它们不能激活效应性 T 细胞,T_{reg} 具有诱导幼稚 T 细胞向 T_{reg} 转化,而不是向效应性 T 细胞转化,这种现象被定义为“传染性耐受现象”;另外研究表明,将 FOXP3⁺逆转录到 CD4⁺CD25⁺T_{reg} 细胞,可以得到有抑制功能的 T_{reg},从而抑制了自身免疫性疾病的发生^[15]。

4 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 与心脏移植免疫耐受

CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 在心脏移植急性排斥反应及免疫耐受中起着重要作用。在小鼠实验中发现,雷帕霉素可以选择性扩展 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 细胞,这些调节性 T 细胞在体外抑制同源 T 细胞增殖,在体内防止同种异体移植物排斥^[16]。M. Hara 等^[17]发现 MHC 不匹配心脏或皮肤移植物产生的抗原特异性的耐受可通过 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 细胞转移。J. L. Cohen 等^[18]在大鼠心脏移植模型中发现,耐受组 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 细胞的水平明显高于对照组,分别是脾脏(28±3)%vs(11±5)%,血液中(23±6)%vs(9±4)%,认为已接触抗原的 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的间接识别介导下的胸腺内免疫调节机制可以促进大鼠心脏移植耐受的形成。朱进国等^[19]在心脏移植大鼠自发免疫耐受模型中 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 与 Foxp3 的变化研究中发现:CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 淋巴细胞在对照组中无明显变化,在心脏移植组(实验组)中 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 淋巴细胞术后第 1 天开始上升,第 3 天[(6.07±1.55)%]达峰值,第 5 天[(5.44±1.47)%]、第 7 天[(3.35±0.46)%]逐渐下降,术后第 3、5 天明显高于对照组(P<0.05);FOXP3 在对照组中无明显表达,在实验组中术后第 3、5 天表达明显,第 7 天表达下降;移植心脏的心肌病理改变在第 1、3 天逐渐加重,第 5 天时病变最重,第 7 天减轻,第 7 天移植心脏排斥反应减轻提示移植心脏产生免疫耐受。提示 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T_{reg} 细胞的数量与功能变化可能参与自发免疫耐受的形。汪向飞等^[20]在 CD4⁺CD25⁺CD127⁺T 细胞在抗 CD45RB 抗体诱导免疫耐受中的作用中研究发现,

明显的抑制能力($P < 0.05$)。与对照组相比, 实验组 $CD4^+ CD25^+ CD127^-$ T 细胞百分率和 Foxp3mRNA 表达量均明显增加($P < 0.05$), 病理结果显示对照组移植心脏出现典型细胞免疫性损伤病理改变, 而实验组中几乎无炎性细胞浸润现象。提示抗 CD45RB 抗体能显著延长心脏移植存活时间, 其诱导免疫耐受机制与上调 $CD4^+ CD25^+ CD127^-$ T 细胞百分率和增加 Foxp3mRNA 表达量有关。

另外, 在体外, 用同种异体刺激性细胞及大剂量 IL-2 反复刺激 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg, 可以引起同种异体特异性 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 的扩增, 在移植免疫治疗中可将体外扩增的 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 转移至受者体内从而产生有效的移植耐受效应, 这种方法今后可能会在心脏移植诱导耐受中引起学者广泛关注。

5 展望

综上所述, $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 细胞是一种重要的免疫调节细胞, 具有诱导免疫耐受, 维持内环境稳定的作用, 既往免疫耐受主要通过抗免疫排斥药物, 但容易产生感染、肿瘤等不良反应, 如何既能在心脏移植术后产生一种持久稳定的免疫耐受状态又能避免服用抗免疫排斥药物产生的不良反应呢? 可能随着人们对 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 的特性、产生的条件及诱导免疫耐受机制的深入研究, 可通过对 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 细胞体内或体外的扩增, 使心脏移植受体在移植前、后产生足够数量的 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 细胞, 以达到人们在心脏移植研究中梦寐以求的那种既不用免疫排斥药物又可产生持久稳定的免疫耐受状态, 这可能成为今后 $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ Treg 细胞研究的热点, 可能应用前景广阔。

参考文献:

- [1] Karczewski M, Karczewski J, Kostrzewa A, et al. The role of FOXP3⁺ regulatory T cells in kidney transplantation[J]. Transplant Proc 2009; 41: 1527.
- [2] Starzl T E. Chimerism and tolerance in transplantation[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(12): 14607-14610.
- [3] Li L S. Chinese handbook of kidney transplantation[M]. Hong Kong: lippincott williams & wilkins, 2005: 31.
- [4] Westernuis G, Mass W G, Willemze R, et al. Long-term mixed chimerism after immunologic conditioning and MHC-mismatched stem-cell transplantation is dependent on NK-cell tolerance[J]. Blood, 2005, 106(6): 2215-2222.

tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases[J]. Immunol, 1995, 155(3): 1151.

- [6] Bushell A, Jones E, Gallimore A, et al. The generation of $CD25^+ CD4^+$ regulatory T cells that prevent allograft rejection does not compromise immunity to a viral pathogen[J]. J Immunol, 2005, 174: 3290.
- [7] Hartigan O' Connor D J, Poon C, Sinclair E, et al. Human $CD4^+$ regulatory T cells express lower levels of the IL-7 receptor alphachain (CD127), allowing consistent identification and sorting of live cells[J]. J Immunol Methods 2007, 319(1/2): 41-52.
- [8] Jiang H, Chess L. An integrated view of suppressor T cell subsets in immune regulation[J]. J Clin Invest, 2004, 114(9): 1198-1208.
- [9] Liu W, Putnam A L, Xu Yu Z, et al. CD127 expression inversely correlates with Foxp3 and suppressive function of human $CD4^+$ Treg cells[J]. J Exp Med, 2006, 203: 1701-1711.
- [10] Paust S, Cantor H. Regulatory T cells and autoimmune disease[J]. Immunol Rev, 2005, 204(1): 195-207.
- [11] Paust S, Lu L, McCarty 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(28): 1039.
- [12] Coenen J J, Kocnen H J, Van Rijssen E, et al. CTIA-4 engagement and regulatory $CD4^+ CD25^+$ T cells independently control CD8⁺-mediated responses under costimulation blockade[J]. J Immunol, 2006, 176(9): 5240.
- [13] Setoguchi R, Hori S, Takahashi T, et al. Homeostatic maintenance of natural Foxp3⁺ CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells by interleukin(IL)-2 and induction of autoimmune disease by IL-2 neutralization[J]. J Exp Med, 2005, 201: 723.
- [14] Grossman W J, Verbsky J W, Barchet W, et al. Human T regulatory cells can use the perforin pathway to cause autologous target cell death[J]. Immunity, 2004, 21(4): 589-601.
- [15] Schwartz R H. Natural regulatory T cells end self-tolerance[J]. Nat Immunol, 2005, 6(4): 327.
- [16] Battaglia M, Stabilini A, Roncarolo M G, et al. Rapamycin selectively expands $CD4^+ CD25^+ Foxp3^+$ regulatory T cells[J]. Blood, 2005, 105: 4743-4748.
- [17] Hara M, Kingsley C I, Niimi M, et al. IL-10 is required for regulatory T cells to mediate tolerance to alloantigens in vivo[J]. Immunol, 2001, 166(6): 3789-3796.
- [18] Cohen J L, Salomon B L. Therapeutic potential of $CD4^+ CD25^+$ regulatory T cells in allogeneic transplantation[J]. Cytotherapy, 2005, 7: 166-170.
- [19] 朱进国, 熊利华. 心脏移植大鼠自发免疫耐受模型中 $CD4^+ CD25^+$ Treg 与 FOXP3⁺ 的变化[J]. 广东医学, 2008, 29(11): 1803-1805.
- [20] 汪向飞, 张晓丹. $CD4^+ CD25^+ CD127^-$ T 细胞在抗 CD45RB 抗体诱导免疫耐受中的作用[J]. 移植免疫学, 2010, 26(6): 523-527.