

· 综 述 ·

不同细胞因子在体外诱导耐受性树突状细胞的作用*

钟志宏¹, 鄢俊², 张品俊¹综述, 陈国安³审校

(1. 赣南医学院教务处, 江西赣州 341000; 2. 赣南医学院第一附属医院, 江西赣州 341000;

3. 南昌大学第一附属医院, 南昌 330006)

关键词: 细胞因子; 耐受性; 树突状细胞; 作用

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2010.17.059

中图分类号: R392.32

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)17-2374-03

树突状细胞(dendritic cell, DC)是体内功能最强的专业性抗原呈递细胞,近年来,DC在免疫应答中的双向调节作用引起了移植学者的广泛关注,其中耐受性树突状细胞(tolerogenic dendritic cells, tDCs)能够诱导特异性T细胞免疫耐受。由于DC主要分布在肝、心、肾等非淋巴器官,数量极为有限,几乎不可能从新鲜组织大量分离获取,对其研究多依赖体外应用细胞因子诱导扩增。目前发现,骨髓细胞或外周血单核细胞在某些细胞因子调节下可在体外定向诱导生成tDCs,如粒/巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、血管活性肠肽、地塞米松、脂多糖。此外,白细胞介素10(IL-10)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和阿司匹林(Aspirin)也有助于tDCs生成。本文就不同细胞因子在体外诱导tDCs的作用进行综述。

1 GM-CSF的作用

GM-CSF属于造血生长因子,对体内肝星状细胞(HSC)分化为DC具有促进作用,同时GM-CSF还能促进体内DC的成熟与活化。GM-CSF是体外扩增tDCs的最重要的细胞因子,常被单独或与其他细胞因子联合使用培养tDCs。有研究表明,常规剂量GM-CSF下培养出的DC为成熟DC和未成熟DC(imature dendritic cells, iDC)的混合体,而在极低剂量GM-CSF下可培养出较单纯的iDC。低GM-CSF的环境仅适于某种DC亚型的分裂增殖,这种DC亚型高水平分泌IL-10,抑制了自身的分化成熟。与成熟DC相比,iDC最显著的表型特征是不表达或低表达协同刺激分子,这也被认为是其诱导免疫耐受的主要分子基础。有实验显示:用小鼠的骨髓细胞作DC前体细胞,适合于培养iDC,而利用细胞因子体外诱导iDCs是培养tDCs的基本方法,其中,低剂量GM-CSF被认为是诱导tDCs最重要的细胞因子。

2 血管活性肠肽的作用

血管活性肠肽是由28个氨基酸组成的直链肽,相对分子质量3323,属胰高血糖素-胰泌素家族,其结构与垂体腺苷酸环化酶活性肽(PACAP)很相似,药理学效应也相似。越来越多的证据表明,血管活性肠肽能下调DCs共刺激分子和加强DCs对T细胞诱导向Th2型偏倚作用,提示血管活性肠肽具有诱导tDCs生成作用^[1-2],实验也证明了血管活性肠肽诱导生成的tDCs刺激T细胞反应能力很弱^[3]。Chorny等^[4]用经血管活性肠肽诱导的DC(DCVIP)与同种异体反应性CD4⁺T细胞共培养,结果显示对T细胞的刺激能力非常弱。此外,经DCVIP与CD4⁺T细胞共同混合培养的CD4⁺T细胞,再次与

同种异体成熟DC共培养也不能扩增^[1],提示DCVIP诱导了失能T细胞,或Treg细胞^[5]。实验也证明DCVIP诱导生成的Treg细胞具有分泌IL-10、TGF- β 的能力,并能抑制同基因型的效应T细胞扩增。表明血管活性肠肽能诱导tDCs,进一步诱导Treg细胞产生^[6],从而发挥诱导抗原特异性免疫耐受作用。

3 地塞米松的作用

地塞米松相对分子质量为392.47,是一种人工合成的肾上腺皮质激素,是免疫抑制剂,目前研究认为,地塞米松可影响DC的分化和发育,在器官移植后更好地诱导移植免疫耐受。地塞米松处理过的DC,其协同刺激分子CD86的表达水平降低^[7],具有抵抗脂多糖刺激DC成熟的能力(可能意味着Toll样受体4的表达较低),且其刺激同种异基因T细胞的增殖能力很弱,说明地塞米松可使DC处于稳定不成熟状态,还可使DC协同刺激分子的表达水平降低而成为“耐受原DC”,从而诱导免疫耐受。有实验联合应用血管活性肠肽和地塞米松诱导tDCs效果最佳,推测血管活性肠肽、地塞米松在诱导tDCs方面可能存在协同作用,使DCs共刺激分子表达下调,有利于骨髓单个核细胞定向分化为tDCs。

4 脂多糖的作用

目前大多数学者认为,iDC诱导免疫耐受,成熟DC诱导免疫应答反应^[8]。然而iDC具有不稳定性,在各种细菌、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、干扰素 γ (INF- γ)等因子的作用下均可迅速发育成熟。脂多糖(LPS)是含糖和脂质的化合物,在组成上糖的分量多于脂,故名。有实验采用血管活性肠肽、地塞米松与GM-CSF等细胞因子诱导小鼠骨髓单个核细胞生成tDCs,在进一步加入LPS诱导成熟后仍保持免疫耐受特性^[9],低表达共刺激分子(CD40、CD80和CD86),低分泌IL-12而高分泌IL-10^[10],刺激T细胞向Treg细胞分化增殖^[11]。推测iDC可能存在不同亚型的DC,tDCs和免疫性DC,其分别调节机体免疫平衡。有实验认为小鼠骨髓细胞经低剂量GM-CSF体外诱导可分化为iDC,经LPS刺激后,DC表达CD40呈现部分激活状态,IL-10明显升高,使IL-10/IL-12上升,一方面抑制了DC分化成熟,另一方面这种自分泌Th2细胞因子充当抗原提呈第3信号,更有利于T淋巴细胞失能和诱导耐受型T辅助细胞,拥有更强的致耐受性。

5 IL-10的作用

IL-10是一种多效性细胞因子,可作用于不同免疫细胞,作用复杂兼有免疫刺激和免疫抑制效应。IL-10可调节髓系细胞

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30260039);江西省自然科学基金资助项目(2007GZY2599)。

的细胞因子、可溶性介质的分泌和细胞表面分子的表达,影响其参与免疫、炎症反应的能力^[12]。IL-10 系抑制单核细胞分化为 DCs 的主要因子,能强烈阻断多种因子刺激 DC 成熟,如 IL-10 可抑制人血中单核细胞在含 GM-CSF 和 IL-4 培养条件下产生 iDC,亦抑制内毒素、CD40L 或 TNF- α 对 iDC 的活化成熟作用。在缺乏 GM-CSF 和 IL-4 时,IL-10 诱导单核细胞分化成巨噬细胞样细胞。对新鲜分离或培养的浆细胞系 DC,IL-10 可诱导其凋亡。IL-10 对小鼠骨髓来源的髓系 DC 的作用与人有所不同,一方面抑制其成熟使 MHC 分子表达低下,另一方面则上调共刺激分子 CD40、CD80、CD86 的表达,说明小鼠在 IL-10 存在下诱导产生了不完全成熟的髓系 DC,后者缺乏活化 T 细胞的能力。DC 在发挥免疫作用时会分泌 IL-12,IL-10 可抑制各型 DC 产生 IL-12 和表达共刺激分子,因此削弱了 DCs 刺激 Th1 细胞反应的能力。有资料证实,IL-10 可明显阻止吞噬细胞(如 DC)中 IL-12p40 的基因转录过程,因而下调 DC 中 IL-12 的表达,减少 IL-12 的分泌,进而减弱 DC 的抗原呈递功能^[13]。这或许从分子水平解释了 IL-10 对 DC 的抑制作用。IL-10 处理过的 DCs 不仅能削弱 T 细胞反应的能力,而且可介导抗原特异耐受状态。同时,IL-10 还能够抑制过敏反应和自身免疫反应,诱导肿瘤逃避免疫监视。

IL-10 是体内抑制性细胞因子,可下调 DCs 表面 MHC-II 类分子、共刺激分子、黏附分子及成熟 DCs 特异性标志 CD83 的表达。IL-10 能诱导 Th0 向 Th2 反应偏倚,并抑制 IL-12 合成。IL-10 还可促进单核细胞来源的 DC 诱导抗原特异性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞免疫无能,表现为 T 细胞增殖减弱,IL-2、IFN- γ 分泌降低。此类 DC 主要对抗成熟信号,可抑制 T 细胞免疫应答,诱导 T 细胞耐受或产生 Treg 细胞^[14]。

6 TGF- β 的作用

TGF- β 是属于一组新近发现的调节细胞生长和分化的 TGF- β 超家族。近年积累的大量实验证据表明,机体可能更主要地通过 CD4⁺、CD25⁺ 调节性 T 细胞以“主动”的方式维持自身免疫耐受。CD4⁺、CD25⁺ T 细胞是机体中主要的调节性 T 细胞,在体内发挥免疫调节功能。CD4⁺、CD25⁺ T 细胞能分泌 TGF- β 和 IL-10^[15],这两种细胞因子都能抑制 DCs 的成熟,因而它能诱导 tDCs 的产生。有研究用骨髓来源 DC 与 CD4⁺、CD25⁺ T 细胞共培养,发现 DCs 能刺激 CD4⁺、CD25⁺ T 细胞活化增殖,这种刺激作用需通过细胞间的相互接触来实现,增殖后的 CD4⁺、CD25⁺ T 细胞仍保持原有的抑制作用,这为 DCs 调节自身免疫和其它免疫反应提供了一种新的作用机制。有研究发现,TGF- β 诱导后 DC 表面抗原 CD40、CD80、CD86 及 MHC-II 类分子的表达都有明显下降^[16],并明显抑制了混合淋巴细胞反应(MLR)中同种异体 T 细胞增殖,说明 TGF- β 能够通过下调 DC 表面协同刺激分子的表达,降低 DC 成熟状态,抑制 T 细胞活化、增殖,进一步抑制 DC 诱导免疫反应的能力。另有学者研究认为 TGF- β 可促使 DC 维持在不成熟状态,这种 iDC 可以诱导 T 淋巴细胞的低应答,在诱导移植免疫耐受中发挥着重要作用。

此外,TGF- β 在伤口愈合和组织修复中具有重要作用。TGF- β 需经蛋白水解或伤口中的酸性环境激活。在受伤和炎症发生后,渗出的细胞成为 TGF- β 的主要来源。产生和释放的 TGF- β 刺激成纤维细胞合成胶原和其他细胞外基质并抑制胶原蛋白的降解,趋化成纤维细胞和巨噬细胞。这些作用与组织的修复相关,在某些条件下可以恢复组织的正常结构,并可能导致组织纤维化。

7 阿司匹林的作用

目前认为 tDCs 诱导免疫耐受的机制主要为低水平表达 MHC-II 类分子,不表达或低水平表达共刺激分子(CD80、CD86)和 CD40。由于在 T 细胞激活过程中缺少了免疫应答所必需的第二信号,T 细胞不能被活化增殖,体外刺激 T 淋巴细胞增殖的能力较弱。相反 tDCs 可诱导抗原特异性 T 细胞无能或凋亡,从而诱导抗原特异性耐受。而常规 DCs 在 LPS 的刺激下发育成熟,能为 T 细胞活化提供所必需的表面分子,因此刺激 T 细胞增殖的能力较强。阿司匹林是乙酰水杨酸类药物,广泛用于解热镇痛、消炎、抗风湿、抗血小板聚集等处,是临床上最常用的药物之一。有研究发现阿司匹林一处理的 DCs 低水平的表达 CD40、CD80、CD83 和 CD86,对免疫刺激呈耐受性^[17]。有研究观察到阿司匹林不影响骨髓单个核细胞向 DC 分化,对 DC 活力亦无显著影响;但可明显抑制 DC 表面的 CD86、CD80 共刺激分子表达,从而诱导 T 淋巴细胞无能,且其促进 T 淋巴细胞增殖能力明显减弱,说明阿司匹林有免疫抑制功能。

DC 的发育、成熟和生物学功能表达的过程有其时序性,存在正反馈和负反馈,有 DC 自身的反馈,也有其他细胞的影响,如 T 细胞、NK 细胞,甚至上皮细胞。体内和体外实验都证明,DCs 通过与 NK 细胞接触而形成免疫突触,借助分泌的细胞因子,促进了 NK 细胞的活化增殖并增强其细胞毒性,提高了 NK 细胞清除病原微生物的能力。激活的 NK 细胞也能够诱导 DCs 的成熟并选择性杀伤 iDCs。NK 细胞分泌的 IFN- γ 又可有效地启动和调节 Th1 应答和特异性 T 淋巴细胞(CTL)反应。因此,NK 细胞和 DCs 相互作用是一个正反馈过程。更令人兴奋的是,有研究发现 tDCs 能刺激初始 T 细胞转化成调节性 T 细胞,反过来,CD4⁺、CD25⁺ T 细胞也能促进 DC 前体细胞分化为具有耐受性的 DCs。这样 tDCs 与 Treg 细胞^[18] 之间形成了一个抑制性的反馈,在诱导和维持免疫耐受中起重要作用。这说明 DCs 与 CD4⁺、CD25⁺ T 细胞在诱导免疫耐受中是相互促进,相辅相成的。

目前已发现多种细胞因子参与 tDCs 的体外诱导增殖过程,但目前对 tDCs 的研究多局限于体外实验,在复杂的体内环境中,其分化途径和影响功能的因素都不十分肯定,很可能是多种因素综合作用的结果,而且存在复杂的调控机制。例如:体内单核细胞、肥大细胞、T 调节细胞和肿瘤细胞等多种细胞均分泌 IL-10。在 IL-10 的刺激下,DC 诱导 Th 细胞向 Th2 细胞分化,后者再分泌 IL-10,作用于 DC,形成正反馈效应,进而抑制免疫反应;体内单核细胞、B 淋巴细胞及其他辅助细胞可产生 IL-12,它可增加许多效应细胞包括 T 淋巴细胞、自然杀伤细胞和巨噬细胞的溶细胞作用,诱导细胞因子如 IFN- γ 的产生,刺激 Th1 细胞的形成。因此,tDCs 体内诱导免疫耐受的影响因素还有待进一步研究,为 tDCs 在预防移植免疫排斥反应和治疗某些自身免疫性疾病的临床应用提供实验依据^[19]。

参考文献:

- [1] Weng Y, Sun J, Wu Q, et al. Regulatory effects of vasoactive intestinal peptide on the migration of mature dendritic cells[J]. J Neuroimmunol, 2007, 182(1-2): 48.
- [2] Gonzalez-Rey E, Delgado M. Role of vasoactive intestinal peptide in inflammation and autoimmunity[J]. Curr Opin Investig Drugs, 2005, 6(11): 1116.
- [3] Delgado M, Chorny A, Ganea D, et al. Vasoactive intesti-

- nal polypeptide induces regulatory dendritic cells that prevent acute graft versus host disease and leukemia relapse after bone marrow transplantation[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1070: 226.
- [4] Chorny A, Gonzalez-Rey E, Delgado M. Regulation of dendritic cell differentiation by vasoactive intestinal peptide; therapeutic applications on autoimmunity and transplantation[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1088: 187.
- [5] Gonzalez-Rey E, Chorny A, Fernandez-Martin A, et al. Vasoactive intestinal peptide generates human tolerogenic dendritic cells that induce CD4 and CD8 regulatory T cells[J]. *Blood*, 2006, 107(9): 3632.
- [6] Delgado M, Gonzalez-Rey E, Ganea D. Vasoactive intestinal peptide: the dendritic cell \rightarrow regulatory T cell axis[J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2006, 1070: 233.
- [7] 邱勇, 李冬妹, 何秀娟, 等. 雷帕霉素和地塞米松对小鼠树突状细胞分化成熟的调控[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2006, 22(5): 582.
- [8] Griffiths KL, O'Neill HC. Dendritic cells as immune regulators: the mouse model[J]. *J Cell Mol Med*, 2008, 12(5B): 1909.
- [9] Salazar L, Aravena O, Contreras-Levicoy J, et al. Short-term lipopolysaccharide stimulation induces differentiation of murine bone marrow-derived dendritic cells into a tolerogenic phenotype[J]. *Eur Cytokine Netw*, 2007, 18(2): 78.
- [10] Anderson AE, Swan DJ, Sayers BL, et al. LPS activation is required for migratory activity and antigen presentation by tolerogenic dendritic cells[J]. *J Leukoc Biol*, 2009, 85(2): 243.
- [11] Fu CL, Chuang YH, Huang HY, et al. Induction of IL-10 producing CD4⁺ T cells with regulatory activities by stimulation with IL-10 gene-modified bone marrow derived dendritic cells[J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 153(2): 258.
- [12] Kavousanaki M, Makrigrannakis A, Boumpas D, et al. Novel role of plasmacytoid dendritic cells in humans; Induction of interleukin-10-producing treg cells by plasmacytoid dendritic cells in patients with rheumatoid arthritis responding to therapy[J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 62(1): 53.
- [13] Vernal R, León R, Silva A, et al. Differential cytokine expression by human dendritic cells in response to different *Porphyromonas gingivalis* capsular serotypes[J]. *J Clin Periodontol*, 2009, 36(10): 823.
- [14] Henry E, Desmet CJ, Garzé V, et al. Dendritic cells genetically engineered to express IL-10 induce long-lasting antigen-specific tolerance in experimental asthma[J]. *J Immunol*, 2008, 181(10): 7230.
- [15] Maynard CL, Hatton RD, Helms WS, et al. Contrasting roles for all-trans retinoic acid in TGF- β -mediated induction of Foxp3 and Il10 genes in developing regulatory T cells[J]. *J Exp Med*, 2009, 206(2): 343.
- [16] Lee TH, Cho HK, Cho YH, et al. Development of an effective method for dendritic cell immunotherapy of mouse melanoma[J]. *Scand J Immunol*, 2009, 70(2): 85.
- [17] Buckland M, Lombardi G. Aspirin and the induction of tolerance by dendritic cells[J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009, 188: 197.
- [18] Thomson AW, Turnquist HR, Zahorchak AF, et al. Tolerogenic dendritic cell-regulatory T-cell interaction and the promotion of transplant tolerance[J]. *Transplantation*, 2009, 87(9 Suppl): S86.
- [19] Fujii S, Takayama T, Asakura M, et al. Dendritic cell-based cancer immunotherapies[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2009, 57(3): 189.

(收稿日期: 2009-12-31 修回日期: 2010-03-08)

• 综 述 •

少突胶质前体细胞在髓鞘再生中作用的研究进展

张 圆, 杨 静, 阳 浩 综述, 陈鹏慧 审核

(第三军医大学神经生物学教研室, 重庆 400038)

关键词: 少突胶质前体细胞; 髓鞘; 再生; 轴突

doi: 10.3969/j.issn.1671-8348.2010.17.060

中图分类号: R743.5

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2010)17-2376-03

髓鞘再生是脱髓鞘疾病发生后的重要修复方式。在中枢神经系统(Central Nervous System, CNS)主要由少突胶质细胞及其前体细胞(Oligodendrocyte Precursor Cells, OPCs)介导, OPCs分化形成具有功能性的少突胶质细胞。近年来, 研究发现 OPCs 广泛存在于哺乳动物的 CNS, 这使髓鞘再生过程成为可能。虽然在动物模型和部分临床患者均已经出现了髓鞘再生成功的实例, 但是在许多慢性脱髓鞘疾病病例中, 髓鞘的再生仍面临某些困难, 其直接原因是少突胶质细胞及其 OPCs 在病变部位的聚集不足或在聚集部位分化失败, 而这些过程是受到多种因素的调控。

1 髓鞘再生障碍的自身因素

不同个体之间存在着许多差别, 包括性别、年龄、自身免疫力等。这些因素都与髓鞘的再生成功与否有着密切的联系。

1.1 年龄因素 随着脱髓鞘发生的年龄不同, 髓鞘的修复效率也存在很大差异。研究发现在 CNS 的髓鞘再生中, 8 周龄的大鼠修复速度快于 40 周龄的大鼠^[1]。在脱髓鞘疾病多发性硬化(Multiple Sclerosis, MS), CNS 的髓鞘再生效率会随着年龄的增加而不断下降, 并且维持这种状态数十年, 因而使得 MS 病程迁延、治愈困难。年龄对髓鞘修复的影响主要通过两种机制作用。一方面是 OPCs 在再生过程中的聚集能力受限;