

· 综 述 ·

CD4<sup>+</sup> T 细胞家族与自身免疫性甲状腺疾病\*汪 毅<sup>#</sup>综述, 刘 纯 审校

(重庆医科大学附属第一医院内分泌科 400016)

关键词: T 淋巴细胞; 甲状腺; 甲状腺疾病

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.29.037

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)29-2999-03

据目前研究结果所知, CD4<sup>+</sup> T 细胞家族包括辅助性 T 细胞(T helper cells, Th, 如 Th0、Th1、Th2、Th9、Th17)及调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg, 如 Th3、Tr1)等亚群, 自身免疫性甲状腺疾病(autoimmune thyroid disease, AITD)与该细胞家族关系密切。多数研究认为 Graves 病(Graves disease, GD)由 Th2 介导, 桥本甲状腺炎(Hashimoto's thyroiditis, HT)中 Th1 占优势。近年来关于 Th17 细胞与自身免疫性疾病之间关系的研究不断深入展开。

1 CD4<sup>+</sup> T 细胞家族的发展壮大过程

初始 CD4<sup>+</sup> T 细胞在接受抗原刺激后首先分化为 Th0 细胞<sup>[1]</sup>, 作为前体细胞的 Th0 受到抗原性质、遗传因素、局部环境中的激素及细胞因子等多种因素的调控<sup>[2]</sup>, 向着 Th1、Th2、Th17、Th3 等亚群的方向分化, 最近有多项研究显示, 一类新的 Th9 细胞<sup>[3-4]</sup>或可加入壮大其队伍。

从细胞因子作用的层面分析, Th0 细胞表达低水平的白细胞介素(interleukin, IL) 2、IL-4、IL-10、干扰素(interferon, IFN)。Th1 细胞通过分泌 IL-2、IL-12、IFN- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- $\beta$  等辅助细胞免疫反应, 清除细胞内病原体。Th2 细胞通过分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 及 IL-13 等辅助体液免疫反应, 清除细胞外病原体。Th17 细胞则主要通过分泌 IL-17 在防御细胞外细菌感染及自身免疫性疾病中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。Th9 细胞分泌的 IL-9(传统认为属于 Th2 细胞)在对抗寄生虫感染和诱导过敏性疾病中作用突出<sup>[6]</sup>。Th3 细胞分泌转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$  等发挥抑制功能, 这类 T 细胞被称为调节性 T 细胞(Treg)。上述细胞因子相互或交叉调节, 如 IL-12、INF- $\gamma$  能促进 Th1 的分化, 抑制 Th2 增生, 而 IL-4、IL-10 的作用相反。IL-23、TGF- $\beta$  诱导 Th17 分化, 而 INF- $\gamma$  及 IL-4 都可干扰抑制此过程<sup>[7]</sup>, 它们之间维持一种微妙的平衡关系, 一旦平衡破坏可能引起免疫性疾病的发生发展。

2 CD4<sup>+</sup> T 细胞家族与自身免疫性甲状腺疾病的关系

甲状腺细胞在正常情况下仅表达主要组织相容性(Major histocompatibility complex, MHC)抗原 I, 但 IFN- $\gamma$  等多种细胞因子能够诱导 MHC II 类抗原的异常表达, 使部分甲状腺细胞具备对自身抗原提呈的能力, 引发 AITD。涉及 AITD 的自身抗体主要有促甲状腺激素受体抗体(thyroid stimulating hormone receptor antibody, TRAb)、甲状腺过氧化物酶抗体(thyroid peroxidase antibody, TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体(Thyroglobulin antibody, TGAb)。IFN- $\gamma$ 、IL-2、IL-4、IL-10、IL-17、TNF- $\alpha$  等细胞因子在自身免疫性疾病中发挥重要作用。

2.1 GD 由 Th2 介导 目前公认引起 GD 的病因是 TRAb, 它主要包括甲状腺刺激性抗体(thyroid stimulating antibody, TSAAb)和甲状腺刺激阻断抗体(thyroid stimulating blocking antibody, TSAAb)<sup>[8]</sup>。实验<sup>[9-10]</sup>提示 IL-4 与 TRAb 水平呈显著正相关, 说明 GD 患者甲状腺内以分泌 IL-4 的 Th2 细胞为主, 它可参与 B 细胞的成熟, 使之产生 TRAb 引起 GD。此结果与大多数文献符合。GD 中 Th1/Th2 细胞因子表达模式并不是一成不变的, Th1/Th2 优势可以互相转化, 这与 GD 有时以甲状腺功能亢进为主, 有时以滤泡细胞破坏表现为甲亢自缓解甚至甲减为主的临床表现是一致的。另外采样时机、糖皮质激素或抗甲状腺药物的应用, 以及对样本体外非特异性刺激均可影响细胞因子表达, 从而导致实验结果的不同。

2.2 桥本甲状腺炎由 Th1 介导 HT 以 TGAb 和 TPOAb 介导的免疫应答为主。实验<sup>[9-11]</sup>提示 IFN- $\gamma$  与 TGAb、TPOAb 均呈显著正相关, 说明 HT 患者甲状腺内以分泌 IFN- $\gamma$  的 Th1 细胞为主, IFN- $\gamma$  可促进甲状腺内淋巴细胞浸润, 产生大量的 TGAb、TPOAb。但也有少数不完全赞同观点的文献报道。

2.3 Th17 与自身免疫性疾病发病呈正相关关系 Th17 细胞自 2005 年由 Langrish<sup>[12]</sup> 提出, 近几年成为免疫学研究的一个热点。此亚群细胞由 IL-23 诱导分化生成, 分泌 IL-17、TNF- $\alpha$  等细胞因子。IL-17 可以诱导固有免疫炎症细胞因子 IL-6、急性反应蛋白、前列腺素 E2 等表达, 与炎症因子 TNF- $\alpha$  等呈协同效应, 放大其炎症反应<sup>[13-14]</sup>。许多实验及临床研究已经证实 Th17 在自身免疫性疾病中具有重要调节作用, 最直接的证据是将 EAE 患病小鼠的 Th17 细胞被动转移正常小鼠后, 健康小鼠被诱导出严重的实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)<sup>[15]</sup>。此外还有关于胶原诱导的关节炎(collagen-induced arthritis, CIA)<sup>[16]</sup> 和系统性红斑狼疮(SLE)<sup>[17]</sup> 等的研究。AITD 常与上述几种自身免疫病伴发<sup>[18]</sup>, 故考虑 AITD 的发生可能与 Th17 细胞有关, 但尚未见 Th17 与 AITD 关系的报道。

2.4 其他 Th3 细胞具有抑制 Th1 和 Th2 的免疫作用并分泌大量的 TGF- $\beta$  以保持外周免疫耐受<sup>[19]</sup>。目前有研究认为 Th9 主要作用是抗寄生虫感染和诱导过敏反应<sup>[6]</sup>, 其是否与自身免疫性疾病相关需要进一步的研究。

## 3 细胞因子相关临床治疗及实验

细胞因子在临床治疗中应用以及在动物实验中获得了部分经验数据。商陆有丝分裂原在甲状腺淋巴细胞中能使细胞因子平衡向 Th1 方向转移, 这种转移能降低自身抗体的合成, 从而减轻甲亢症状<sup>[20]</sup>。而用属于 Th2 型细胞因子的 IL-10 局

\* 基金项目: 重庆市卫生局医学科学技术研究项目(2009-2-319)。

<sup>#</sup> 现在重庆市第三人民医院内分泌科工作。

部基因治疗可使属于 Th1 型细胞因子的 IFN- $\gamma$  明显降低,促使细胞因子向 Th2 型优势应答类型转变,并显著清除甲状腺内的淋巴细胞浸润<sup>[21]</sup>。用 IL-2 治疗的肿瘤患者,甲状腺内活化 T 细胞增多,通过细胞介导的细胞毒作用直接造成甲状腺组织的破坏。外源 IL-2 还能刺激机体中 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  等水平增高,影响 TEC 生长与分化,减低对 TSH 的反应,甲状腺功能也随之变化<sup>[22]</sup>。小鼠实验性自身免疫性甲状腺炎(experimental autoimmune thyroiditis EAT)是人类桥本甲状腺炎的动物模型,王胜军等<sup>[23]</sup>通过体外观察 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 细胞对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞增殖及产生 IFN- $\gamma$  的影响,同时通过过继转移试验研究 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞对诱导小鼠 EAT 的作用,观察到其可以明显抑制效应性 T 细胞的增殖和 IFN- $\gamma$  的产生;将 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞与病理性 CD25<sup>+</sup>T 细胞共同注射正常小鼠,可抑制病理性 T 细胞诱导 EAT 的发生,并且为 Treg 细胞用于自身免疫性疾病的治疗提供了实验依据。小鼠 EAE 模型中 Th17 细胞的作用可以被调节性 T 细胞分泌的高剂量 TGF- $\beta$  抑制<sup>[24]</sup>。Liu 等<sup>[25]</sup>研究发现小柳原田氏病葡萄膜炎活动期患者血浆中 IL-17、IFN- $\gamma$  均明显升高,环孢霉素 A 和强的松全身应用可以在减轻患者临床症状的同时降低血浆中 IL-17、IFN- $\gamma$  水平。其体外实验进一步证实环孢霉素 A 和强的松可以抑制 Th1 细胞和 Th17 细胞增殖和分泌细胞因子。

#### 4 总 结

CD4<sup>+</sup>T 细胞家族与自身免疫性甲状腺疾病之间有着深刻紧密的联系,前者的失衡会导致后者的发生发展,细胞因子之间的相互调节机制尚需进一步明确,以期为疾病提供新的有效的治疗途径。

#### 参考文献:

- [1] Constant L, Bottomly K. Induction of Th1 and Th2 CD4<sup>+</sup>T cell responses; The alternative approaches[J]. *Ann Rev Immunol*, 1997, 15: 297-322.
- [2] 陈慰峰. 医学免疫学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 107.
- [3] Veldhoen M, Uytendhoeve C, Snick VJ, et al. Transforming growth factor-beta 'reprograms' the differentiation of T helper 2 cells and promotes an interleukin 9-producing subset[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(12): 1341-1346.
- [4] Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3<sup>+</sup> T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9<sup>+</sup> IL-10<sup>+</sup> Foxp3(-) effector T cells[J]. *Nat Immunol*, 2008, 9(12): 1347-1355.
- [5] Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. Th17: the third member of the effector T cell trilogy[J]. *Curr Opin Immunol*, 2007, 19(6): 652-657.
- [6] Soussi-Gounni A, Kontolemos M, Hamid Q, et al. Role of IL-9 in the pathophysiology of allergic diseases[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107(4): 1341-1346.
- [7] Wahl SM, Wen J, Moutso P. TG-beta: a mobile purveyor of immune privilege[J]. *Immunol Rev*, 2006, 213(1): 213-217.
- [8] 兰玲, 施秉银. 甲状腺素受体抗体检测的临床意义[J]. *国外医学内分泌学分册*, 2005, 25(1): 42-44.

- [9] 冯学民, 秦明秀, 赵炎, 等. Th1/Th2 细胞因子结合甲状腺自身抗体检测在自身免疫性甲状腺疾病中的诊断价值[J]. *标记免疫分析与临床*, 2008, 15(4): 222-225.
- [10] 唐亚梅, 陈志衡, 唐爱国. Th1/Th2 型细胞因子失衡与自身免疫性甲状腺疾病的关系研究[J]. *中国医师杂志*, 2005, 7(7): 876-878.
- [11] Yu S, Sharp GC, Braley-Mullen H. Thyrocytes responding to IFN-gamma are essential for development of lymphocytic spontaneous autoimmune thyroiditis and inhibition of thyrocyte hyperplasia[J]. *J Immunol*, 2006, 176(2): 1259-1265.
- [12] Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell regulation that induces autoimmune inflammation[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(2): 233-240.
- [13] McAllister FA, Henry JL, Kreindler PJ, et al. Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis[J]. *J Immunol*, 2005, 175(1): 404-412.
- [14] Komiyama YS, Nakae T, Matsuki A, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 566-573.
- [15] 吴长有. Th17 细胞: 一种新的效应 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2006, 22(6): 695-697.
- [16] Carriery Y, Yuan J, Kuchroo VK, et al. Th3 cells in peripheral tolerance. I. Induction of Foxp3-positive regulatory T cells by Th3 cells derived from TGF-beta T cell-transgenic mice[J]. *J Immunology*, 2007, 178(1): 179-185.
- [17] Wong CK, Lit LC, Tam LS, et al. Hyperproduction of IL-23 and IL-17 in patients with systemic lupus erythematosus: implications for Th17-mediated inflammation in autoimmunity[J]. *Clin Immunol*, 2008, 127(3): 385-393.
- [18] 叶任高. 内科学[M]. 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 726.
- [19] Den Haan JM, Kraal G, Bevan MJ. Cutting edge: Lipopolysaccharide induces IL-10-producing regulatory CD4<sup>+</sup>T cells that suppress the CD8<sup>+</sup>T cell response[J]. *J Immunology*, 2007, 178(9): 5429-5433.
- [20] Guo J, Rapoport B, McLachlan SM. BaLance of Th1/Th2 cytokines in thyroid autoantibody synthesis in vitro[J]. *Autoimmunity*, 1999, 30(1): 1-9.
- [21] Balterux F, Trebeden H, Charrene J, et al. Curative treatment of experimental autoimmune thyroiditis by in vivo administration of plasmid NDA coding for interleukin-10[J]. *Eur J Immunol*, 1999, 29(3): 958-963.
- [22] Weiji Ni, Harst DVD, Brnd A, et al. Hypothyroidism during immunotherapy with interleukin-10 associated with antithyroid antibodies and response to treatment[J]. *J*

Clin Oncology, 1993, 11(7): 1376-1383.

[23] 王胜军, 许化溪, 王永忠, 等. CD4<sup>+</sup> CD25 调节性 T 细胞抑制小鼠自身免疫性甲状腺炎的发生[J]. 中国免疫学杂志, 2005, 21(2): 102-106.

[24] Li MO, Wan YY, Flavell RAT. Cell-produced transforming growth factor $\beta$  controls T cell tolerance and regulates Th1 and Th 17-cell differentiation [J]. Immunity,

2007, 26(5): 579-591.

[25] Liu X, Yang P, Lin X, et al. inhibitory effect of Cyclosporin A and corticosteroids on the production of IFN-gamma and IL-18 by T cells in Vogt-Koyanagi-Harada syndrome [J]. Clin Immunol, 2009, 131(2): 233-242.

(收稿日期: 2011-04-14 修回日期: 2011-05-26)

· 综 述 ·

## 先天性心脏病相关 bHLH 转录因子的研究进展\*

张永波 综述, 仇小强 审校

(桂林医学院附属医院心内科, 广西桂林 541001)

**关键词:** 心脏病; 转录因子; 心脏神经嵴衍生物表达蛋白

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2011. 29. 038

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2011)29-3001-03

先天性心脏病 (congenital heart disease, CHD) 是由于胚胎发育过程中相关基因异常, 导致心脏血管发育异常所形成的一组心血管系统畸形。CHD 是人类最常见的出生缺陷之一, 在新生儿中发病率估计为 0.4%~5%<sup>[1]</sup>, 为婴儿期非感染死亡的首位病因, 也是自然流产和死胎最常见的原因之一。据世界卫生组织统计资料显示, 全球每年约 150 万儿童出生时患有 CHD。因此, 完整理解心血管系统发育机制, 从分子水平探索预防和治疗 CHD 的措施, 对降低婴幼儿病死率、提高人口质量具有重要意义。

心脏是脊椎动物胚胎发育过程中最早形成的功能器官。心脏由不同胚层来源的细胞发育而来, 是各种细胞经过精准的特化、分化、迁移和组织结构的折叠、屈曲的结果。这一系列复杂的形态变化及精密的血流动力学改变均由一个核心转录因子调控网络控制, 其中主要包括碱性螺旋-环-螺旋蛋白 (bHLH)、NK2、GATA、TBX 等。该调控网络将上游诱导信号与下游调控基因联系起来, 控制心肌细胞的增殖和分化、心脏发育模式及形态发生和心脏收缩<sup>[2]</sup>。bHLH 蛋白家族成员众多、功能庞大在心脏形成过程中的作用尤为显著, 与 CHD 的发生关系密切。

### 1 bHLH 结构和功能

bHLH 包含 60 个左右氨基酸残基, 由两个  $\alpha$  螺旋通过一段环状结构相连接, 上游富含碱性氨基酸。两条双亲性  $\alpha$  螺旋的一侧有亮氨酸和苯丙氨酸等疏水氨基酸, 两条链依赖疏水氨基酸的相互作用形成同二聚体或异二聚体, 螺旋区含有各种保守的氨基酸残基。bHLH 通过螺旋-环-螺旋模体二聚体化, 使每个长螺旋的碱性部分与 DNA 上 E-盒序列 CANNTG 结合发挥调控作用。缺乏碱性区肽链的螺旋-环-螺旋蛋白与 bHLH 形成异二聚体, 可以阻止 bHLH 与 DNA 结合, 从而增加其调控作用的多样性。bHLH 几乎存在于所有的真核生物中, 是胚胎发育过程中重要的调节因子。已知动物 bHLH 超家族包含 6 个高阶组共 45 个家族, 每个家族由一至数个成员组成, 分别在生物体神经细胞、肌肉细胞、肠组织、心脏和造血细胞发育过程中发挥重要功能。目前研究认为与心血管发育

关系密切的 bHLH 超家族成员主要有 HAND 家族和 HRT 家族。

### 2 心脏神经嵴衍生物表达蛋白 (heart and neural crest derivatives, HAND) 家族

HAND 属于 A 组 bHLH 转录调节因子超家族成员, 能够与具有 CACCTG 或 CAGCTG 特征的 E 框 DNA 片段特异性结合。HAND 家族有两个成员 HAND1 和 HAND2。HAND 因子在不同物种之间表现出较高的氨基酸序列一致性, 说明其生物功能具有高度保守性<sup>[3-4]</sup>。在心血管形成前, HAND 首先在心脏前体侧壁中胚层、神经嵴和腮弓上表达, 然后持续表达于整个心脏发育过程中, 直到心腔分化完成。虽然在哺乳动物心脏形态形成和早期胚胎心血管不对称环化过程中 HAND1 和 HAND2 最初是共同表达的, 但随后 HAND1 逐渐主要局限于在左心室表达, HAND2 逐渐主要局限于在右心室表达<sup>[5]</sup>, 而在胚胎主动脉球囊、心室流出道以及早期室间隔中, HAND1 和 HAND2 基因仍共同表达<sup>[3-4]</sup>。在整个心脏发育进程中, HAND 基因表达逐渐下调。HAND 基因在成人心脏的表达水平非常低, 但在心脏出现疾病的时候可以再表达, 特别在心脏肥大时 HAND 基因呈显著的反应性高表达。HAND1 基因在左心室的发育过程中起重要作用, Reamon-Buettner 等<sup>[6]</sup> 研究发现, HAND1 的 bHLH 结构域一个功能缺失性移码突变 (p. A126fs) 在心脏发育不全中频发, 在房室间隔缺损的组织样本中, 他们检测到 32 个序列改变导致氨基酸的改变, 其中 12 个序列是在 HAND1 的 bHLH 结构域。由此可以认为, HAND1 对 CHD 的发生特别是房室间隔缺损的发生至关重要。Risebro 等<sup>[7]</sup> 通过培养胚胎干细胞源性心肌细胞研究揭示, 在 HAND1 缺失的背景条件下心肌细胞分化显著提高, 但决定心肌细胞命运的中胚层通路明显缺失。由此表明 HAND1 作为一个重要的心脏调节蛋白, 控制着心脏发育过程中细胞增殖和分化之间的平衡。此外, 当 HAND1 基因被插入到 Mlc2v 基因座内, HAND1 基因在整个左、右心室发育过程中呈强势过度表达并且引起房室间隔缺损<sup>[8]</sup>。Nkx2.5 基因敲除小鼠的心脏 HAND1 基因表达障碍并出现严重的心室畸形,

\* 基金项目: 广西自然科学基金重点项目 (2010GXNSFD013054)。