

· 综 述 ·

CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞及其在肝病的研究进展*邓 茜^{1,2}综述,肖影群¹△审校

(1. 南昌大学附属感染医院肝病病理研究室,南昌 330002; 2. 南昌大学研究生院医学部 2009 级,南昌 330006)

关键词:抗原,CD4;T 淋巴细胞,调节性;Foxp3;肝病

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.10.029

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2012)10-1004-03

调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)是机体内具有免疫抑制功能的一类 T 细胞亚群。调节性 T 细胞在包括感染、肿瘤、自身免疫性疾病等在内的多种疾病有密切关系^[1-3]。CD4⁺CD25⁺Treg 是一群专职 Treg^[4],是多种疾病研究的热点之一。本文主要就 CD4⁺CD25⁺Treg 的来源、分类、功能、免疫表型及其在肝病领域的研究进行综述。

1 Treg 的来源和分类

Treg 按是否来源于胸腺可分为在胸腺内分化生成的自然调节 T 细胞(nTreg),如 CD4⁺CD25⁺Treg 和在胸腺外诱导产生的适应性调节 T 细胞(aTreg 或 iTreg),如 Tr1 和 Th3;此外,还有 CD8⁺Treg、NKT 细胞等,它们与免疫耐受和自身免疫性疾病有关^[5-6]。

1.1 CD4⁺CD25⁺Treg 的功能 CD4⁺CD25⁺Treg 是 Sakaguchi 等^[7]在 1995 年发现的,既可以在胸腺内分化生成,也可以在外周诱导产生^[5],其主要作用是抑制自身反应性 T 细胞和多种免疫细胞的功能,抑制 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞的增殖,发挥免疫自稳功能,保持免疫耐受与免疫反应的平衡^[8]。如果 CD4⁺CD25⁺Treg 的数量、比例或功能发生一定的变化则易引起多种与免疫有关的疾病,如炎症、肿瘤以及自身免疫性疾病等。

1.2 CD4⁺CD25⁺Treg 的免疫表型 根据 CD4⁺CD25⁺Treg 的特异性免疫表型可将其与其他淋巴细胞亚群区分,以便单独对 CD4⁺CD25⁺Treg 进行研究,免疫表型越特异,分选的 CD4⁺CD25⁺Treg 越纯,研究结果就越可信。CD4⁺CD25⁺Treg 的免疫表型主要有 CD4、IL-2R α 链即 CD25、叉头翼状螺旋转录因子 Foxp3、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体(glucocorticoid-inducible tumor necrosis factor receptor, TGF-GITR)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)、CD45RO、CD62L、Neuropilin-1(Nrp1)、Toll-like receptors (TLRs)、CD103 及多种趋化因子受体(CCR),另外还低表达 CD45RA 和 CD127,可用 CD45RA^{low}/CD127^{low} 表示^[8]。

1.3 CD25⁺ 人的 CD4⁺T 细胞中有 5%~10% 表达 CD25, CD8⁺T 细胞中有不到 1% 的表达 CD25^[8],因此,CD25 不是 CD4⁺CD25⁺Treg 的特异性免疫表型。但有些学者认为 CD25^{high} 是 CD4⁺CD25⁺Treg 的较为特异的免疫表型,并认为 CD4⁺CD25^{high}Treg 才具有免疫抑制作用^[9]。

1.4 Foxp3 Foxp3 是 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞特异的免疫标记物,也是决定 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞生长发育、功能发挥的关键基因(位于 X 性染色体上)^[10-11]。Foxp3 缺失可导致 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞生成障碍而引起自身免疫性疾病,

Foxp3 过度表达则会导致免疫耐受或免疫缺陷^[12-13]。有研究表明,转染和表达 Foxp3 基因的 CD4⁺CD25⁻T 细胞可以使其成为具有调节功能的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞^[11,14]。目前,大部分学者联合使用 CD4、CD25 和 Foxp3 组合分选出 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 亚群进行相关的研究。但是由于 Foxp3 存在于细胞内,分选 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 亚群要进行胞内染色,会破坏细胞膜,分选后的细胞不能再培养而用于研究。

1.5 CD127^{low/-} 最近,又有一些学者提出 CD127^{low/-}也是 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞较特异的免疫表型。Liu 等^[15]的研究证明 CD127^{low/-}的表达与 Foxp3⁺的表达有很好的相关性,联合使用 CD4、CD25 和 CD127 组合分选出的 Treg 的纯度比其他组合(如 CD4、CD25 和 Foxp3 组合)的高,有很强的免疫抑制功能。而且,分选出的 CD4⁺CD25⁺CD127^{low/-}Treg 没有破坏细胞,可以再培养研究。现在已经有不少研究使用该组合分选 Treg 亚群进行研究。

2 CD4⁺CD25⁺Treg 与肝脏疾病

2.1 CD4⁺CD25⁺Treg 与病毒性肝炎 CD4⁺CD25⁺Treg 与病毒性肝炎的关系是目前的该领域研究的热点之一。研究发现慢性乙型肝炎患者外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 的数量高于健康人和恢复期患者,与病毒载量成正比^[16-17]。Franzese 等^[18]通过体外实验证明 CD4⁺CD25⁺Treg 通过细胞间接触和(或)细胞因子途径,调节乙肝病毒(HBV)特异性 CD8⁺效应 T 细胞的增殖和功能发挥免疫抑制效应,使抗病毒的免疫反应低下,导致病程慢性化,并指出这种情况同时出现在慢性乙型肝炎和慢性丙型肝炎患者中。此外,CD4⁺CD25⁺Treg 也可以通过诱导和维持机体免疫耐受使慢性乙型肝炎患者体内病毒难以完全清除,病程慢性化^[19]。

2.2 CD4⁺CD25⁺Treg 与肝细胞癌 CD4⁺CD25⁺Treg 与肝细胞癌的关系也是现阶段研究热点之一。Sasaki 等^[20]运用免疫组化技术检测 164 例原发性肝细胞癌患者的手术切除标本癌组织浸润的 Foxp3⁺Treg 数量,发现这些患者癌组织浸润的 Foxp3⁺Treg 数量较对照组显著增高且与患者血清 AFP 值呈正相关,Foxp3⁺Treg 数量多者比少者的 5 年生存率低,并指出 Foxp3⁺Treg 数量高是原发性肝细胞癌患者的独立预后不良因素^[20]。Ju 等^[21]运用免疫组化技术检测 207 例原发性肝细胞癌患者的术后癌旁组织中浸润的 Foxp3⁺Treg 数量的研究表明:癌旁组织中浸润的 Foxp3⁺Treg 数量多者肝内转移可能性大。什么原因导致肝细胞癌组织和外周浸润的 CD4⁺CD25⁺Treg 数量增高呢?可能的原因有:(1)认为增多的 CD4⁺CD25⁺Treg 来自胸腺外,即肿瘤诱导 CD4⁺CD25⁺Treg 增殖;(2)认为增多的 CD4⁺CD25⁺Treg 来自胸腺,即 CD4⁺

* 基金项目:2010 年江西省卫生厅科技计划资助项目(20113154)。

△ 通讯作者,Tel:13320118901;E-mail:xiaoyq2008@126.com。

CD25⁺Treg 在胸腺内对肿瘤抗原刺激发生增殖后,迁移至外周肿瘤部位发挥作用。至今尚无定论是那种原因导致 CD4⁺CD25⁺Treg 增殖。Beyer 和 Schultze^[2]认为 CD4⁺CD25⁺Treg 的增殖的可能原因两者都有:包括经 CCL22/CCR4 途径吸引 CD4⁺CD25⁺Treg 至肿瘤部位和经 PGE2 或 H-ferritin 途径诱导 CD4⁺CD25⁺Treg 增殖,进而抑制主要由肿瘤特异性效应 T 细胞(肿瘤反应性淋巴细胞)介导的抗肿瘤免疫反应,降低机体对肿瘤细胞的免疫监视作用,导致肿瘤生长、进展。

Treg 如何被吸引到肿瘤部位并增殖的一种说法是:可能是肿瘤细胞和肿瘤浸润的巨噬细胞释放 CCL22 和 H-ferritin 导致 CCR4⁺的天然 Treg 在肿瘤微环境中积累;在 PEG2 诱导的致耐受性树突状细胞(DC)作用下,天然的 Treg 分化、增殖成为记忆性 Treg,记忆性 Treg 与致耐受性树突状细胞一起抑制效应性 T 细胞的产生,导致抗肿瘤免疫耐受。

2.3 CD4⁺CD25⁺Treg 与肝衰竭 肝衰竭是多种因素引起的严重肝脏损害,表现为肝脏合成、解毒、排泄和生物转化等功能发生严重障碍或失代偿。在我国引起肝衰竭的主要病因是乙型肝炎病毒引起的肝炎、肝硬化和肝癌。如上所述,病毒性肝炎和肝细胞癌都与 CD4⁺CD25⁺Treg 数量和功能的变化有密切关系,那么,CD4⁺CD25⁺Treg 在肝衰竭中是否也有重要作用呢?Wang 等^[22]的研究表明:慢性乙肝患者外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞的比例显著高于健康人;慢性乙肝病毒感染的肝衰竭患者外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 占 CD4⁺T 细胞的比例明显低于慢性乙肝患者的。同时,他们通过 CD4⁺CD25⁺Treg 体外抑制实验证明肝衰竭患者体内的高水平 HMGB1 通过减少 TregFoxp3 的表达来抑制 Treg 的免疫活性,并提出对抗 HMGB1 和免疫调节是治疗肝衰竭可行方案的假设,但有待进一步研究证实。

2.4 CD4⁺CD25⁺Treg 与肝移植 各种原因引起的肝脏疾病发展到晚期危及生命时,肝移植是有效的治疗手段。移植后的排斥反应多为发生在 1 周以后的急性排斥反应,由免疫系统介导,是患者移植后生存期的重要影响因素,而发生在 1 周内的排斥反应较少。Demirkiran 等^[23]探究了供者肝脏中 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞在肝移植后的作用,发现供者肝脏中的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的比例比健康人血液中的高;在单向混合淋巴细胞反应(MLR)中,发现供者肝脏灌注液中的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞有抑制供者和受者 T 细胞的增殖和干扰素的产量;肝移植后的 1 周内受者血液中有高达 5%的 CD4⁺CD25⁺Treg 来自供者肝脏,但此后受者血液中来自供者肝脏的这部分有抑制免疫反应的细胞明显减少。作者认为,这部分细胞对肝移植后早期(1 周内)的免疫耐受有重要意义,以致不发生排斥反应。不过,通过这个研究或许可以推测 1 周后有免疫抑制活性的 Treg 的减少是发生急性排斥反应的可能因素之一。这也为防治肝移植后的排斥反应提供了一些理论依据和新思路。

2.5 CD4⁺CD25⁺Treg 与自身免疫性肝病 自身免疫性肝病是一组与自身免疫有关的慢性肝病,主要包括自身免疫性肝炎(AIH)和原发性胆汁性肝硬化(PBC)。有研究表明,AIH 患者外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的比例和功能比健康者的降低,从而不能有效抑制自身反应性 T 细胞,导致自身免疫疾病的发生^[24-25]。Lan 等^[26]也发现 PBC 患者体内的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的比例比健康者的降低。Park 等^[27]的研究表明 PBC 患者 CD4⁺CD25⁺Treg 无能与 Foxp3 基因 IVS9+459 片段的单核苷酸多态性有关。这可能是自身免疫性肝病者 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数量和功能降低的机制,但有待进一步

研究证实。

综上所述,CD4⁺CD25⁺Treg 是一群专职 Treg^[4],具有免疫低反应性和免疫抑制的功能,该功能对多种疾病的发生发展有重要作用,且具有普遍的一般作用规律:即维持免疫耐受与免疫反应的平衡。当 CD4⁺CD25⁺Treg 数量、比例和功能降低时,机体免疫耐受减弱和(或)免疫反应增强,可致炎症、自身免疫性疾病、排斥反应等,反之,机体免疫耐受增强和(或)免疫反应下降,可致感染持续,但可能减轻或减少自身免疫性疾病和移植物排斥反应的发生。在上述肝脏疾病中除了这些普遍的作用机制外,还存在一些具体或特定的作用机制:例如在慢性乙型病毒性肝炎中 CD4⁺CD25⁺Treg 与 HBV 特异性 CD8⁺效应 T 细胞通过 CTLA-4 与 HLA-A2-限制性 HBV 抗原决定簇的结合,调节 HBV 特异性 CD8⁺效应 T 细胞的增殖和功能,发挥免疫抑制效应;在慢性乙型病毒感染导致的肝衰竭患者,Treg 的免疫活性降低则与其体内高水平 HMGB1 有关;在肝细胞癌患者中可能经 CCL22/CCR4 途径或(和)经 PGE2 或 H-ferritin 途径诱导 CD4⁺CD25⁺Treg 聚集增殖,从而抑制主要由肝癌细胞特异性效应 T 细胞介导的抗肝癌细胞免疫反应;对于自身免疫性肝病者则可能与 Foxp3 基因 IVS9+459 片段的单核苷酸多态性改变有关的 CD4⁺CD25⁺Treg 无能有关。然而,因机体调控 CD4⁺CD25⁺Treg 的机制复杂多样,这些机制仅仅是众多机制的一部分,至今确切而全面的机制仍有待进一步研究。不过,相信谜底终会揭开,到时,当今的难以治疗的肝脏疾病,如慢性乙型病毒性肝炎、肝脏肿瘤以及自身免疫性肝病等的治疗将会迎来新的纪元。

参考文献:

- [1] Belkaid Y, Rouse BT. Natural regulatory T cells in infectious disease[J]. Nat Immunol, 2005, 6(4): 353-360.
- [2] Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer[J]. Blood, 2006, 108(3): 804-811.
- [3] Costantino CM, Baecher-Allan CM, Hafler DA. Human regulatory T cells and autoimmunity[J]. Eur J Immunol, 2008, 38(4): 921-924.
- [4] Garin MI, Chu CC, Golshayan D, et al. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4⁺CD25⁺T cells [J]. Blood, 2007, 109(5): 2058-2065.
- [5] Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VF, et al. Regulatory T cells and human disease[J]. Clin Dev Immunol, 2007: 89195.
- [6] Jiang H, Chess L. An integrated view of suppressor T cell subsets in immunoregulation[J]. J Clin Invest, 2004, 114(9): 1198-1208.
- [7] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, et al. Pillars article: immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases [J]. J Immunol, 2011, 186(7): 3808-3821.
- [8] 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.
- [9] Torgerson T. Regulatory T cells in human autoimmune diseases[J]. Springer Semin Immunopathol, 2006, 28(1):

- 63-76.
- [10] Banham AH, Powrie FM, Suri-Payer E. Foxp3⁺ regulatory T cells: current controversies and future perspectives [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(11): 2832-2836.
- [11] Shohei H, Takashi N, Shimon S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3 [J]. *Science*, 2003, 299(5609): 1057-1061.
- [12] Aandahl EM, Michalsson J, Moretto WJ, et al. Human CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells control T-cell responses to human immunodeficiency virus and cytomegalovirus antigens [J]. *J Virol*, 2004, 78(5): 2454-2459.
- [13] Coffey PJ, Burgering BM. Forkhead-box transcription factors and their role in the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2004, 4(11): 889-899.
- [14] 肖亚, 张良甫, 黄赤兵, 等. Foxp3 基因转染小鼠 CD4⁺ CD25⁻ T 细胞对同种 T 细胞增殖反应的影响 [J]. *重庆医学*, 2006, 35(7): 601-603.
- [15] Liu W, Putnam AL, Xu-Yu Z, et al. CD127 expression inversely correlates with Foxp3 and suppressive function of human CD4⁺ T reg cells [J]. *J Exp Med*, 2006, 203(7): 1701-1711.
- [16] Stoop JN, van der Molen RG, Baan CC, et al. Regulatory T cells contribute to the impaired immune response in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. *Hepatology*, 2005, 41(4): 771-778.
- [17] Peng G, Li S, Wu W, et al. Circulating CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells correlate with chronic hepatitis B infection [J]. *Immunology*, 2008, 123(1): 57-65.
- [18] Franzese O, Kennedy PT, Gehring AJ, et al. Modulation of the CD8⁺-T-cell response by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in patients with hepatitis B virus infection [J]. *J Virol*, 2005, 79(6): 3322-3328.
- [19] Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses [J]. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22: 531-562.
- [20] Sasaki A, Tanaka F, Mimori K, et al. Prognostic value of tumor-infiltrating Foxp3⁺ regulatory T cells in patients with hepatocellular carcinoma [J]. *Eur J Surg Oncol*, 2008, 34(2): 173-179.
- [21] Ju MJ, Qiu SJ, Gao Q, et al. Combination of peritumoral mast cells and T-regulatory cells predicts prognosis of hepatocellular carcinoma [J]. *Cancer Sci*, 2009, 100(7): 1267-1274.
- [22] Wang LW, Hui C, Zuo-Jiong G. High mobility group box-1 protein inhibits regulatory T cell immune activity in liver failure in patients with chronic hepatitis B [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2010, 9(5): 499-507.
- [23] Demirkiran A, Bosma BM, Kok A, et al. Allosuppressive donor CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells detach from the graft and circulate in recipients after liver transplantation [J]. *J Immunol*, 2007, 178(10): 6066-6072.
- [24] Longhi MS, Ma Y, Bogdanos DP, et al. Impairment of CD4(+)CD25(+) regulatory T-cells in autoimmune liver disease [J]. *J Hepatol*, 2004, 41(1): 31-37.
- [25] Longhi MS, Hussain MJ, Mitry RR, et al. Functional study of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in health and autoimmune hepatitis [J]. *J Immunol*, 2006, 176(7): 4484-4491.
- [26] Lan RY, Cheng C, Lian ZX, et al. Liver-targeted and peripheral blood alterations of regulatory T cells in primary biliary cirrhosis [J]. *Hepatology*, 2006, 43(4): 729-737.
- [27] Park O, Grishina I, Leung PS, et al. Analysis of the Foxp3/scurfin gene in Crohn's disease [J]. *Ann N Y Acad Sci*, 2005, 1051: 218-228.

(收稿日期: 2011-11-05 修回日期: 2011-12-06)

• 综 述 •

肝纤维化的磁共振研究应用进展*

杨 静 综述, 曾 燕[△] 审校

(重庆医科大学第二临床学院/重庆医科大学附属第二医院放射科 400010)

关键词: 肝硬化; 磁共振成像; 治疗应用

doi: 10. 3969/j. issn. 1671-8348. 2012. 10. 030

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)10-1006-04

肝纤维化是肝内纤维结缔组织的异常增生与沉积, 是各种慢性肝病向肝硬化发展的必经阶段。目前认为肝纤维化是一个可以逆转的动态变化过程, 因此对肝纤维化程度做出准确的评估有重要的临床意义。它可以监测肝病的进展情况, 更好地指导临床治疗方案的优化。目前习惯采用 Batts-Ludwing 5 分制分类法, 即 F0 期: 无纤维化; F1 期: 汇管区纤维化; F2 期: 汇管区周围纤维化; F3 期: 间隔性纤维化; F4 期: 肝硬化。肝脏活检目前仍然是评估肝纤维化的金标准。然而, 由于其是有创

性操作, 存在取样误差、病理评估的差异及并发症发生的可能, 用肝脏活检对肝病患者进行诊断和分期的应用十分局限, 临床上迫切需要一种无创的方法来评估肝纤维化。近年来随着医学影像技术的发展, 特别是磁共振成像 (Magnetic Resonance Imaging, MRI) 的开发应用, 对肝纤维化的诊断和分期评估的优势越来越明显。本文主要介绍各种 MRI 技术, 特别是功能 MRI (弥散加权成像、波谱成像、弹性成像和灌注成像) 及 MRI 分子成像对肝纤维化研究应用的新进展。