

IDO、Treg/Th17 分化与中性粒细胞性哮喘*

胡琦综述,廖伟[△]审校

(第三军医大学西南医院儿科,重庆 400038)

[关键词] 哮喘;中性粒细胞;调节性 T 细胞;限速酶

[中图分类号] R725.6

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)34-4852-03

支气管性哮喘是一种气道慢性炎症性疾病,具有明显的异质性。按哮喘气道炎症类型的不同,Simpson 等^[1]把哮喘分为嗜酸性粒细胞性哮喘、中性粒细胞性哮喘、混合细胞(嗜酸性粒细胞和中性粒细胞)性哮喘及寡细胞性哮喘。皮质激素联合支气管扩张剂吸入是目前支气管哮喘的主要治疗手段,但在临床治疗中发现部分重症或难治性哮喘出现激素抵抗,单用激素治疗病情难以控制^[2]。研究也发现,这些患者气道内有更多的中性粒细胞浸润、更明显的组织损伤及气道重塑^[3]。Moore 等^[4]进一步发现按气道炎症表型分类的中性粒细胞性哮喘在临床上往往是重症哮喘或难治性哮喘。因此明确中性粒细胞性哮喘的发病机制,对于重症及难治性哮喘的防治有重要意义。

过去认为 Th1/Th2 细胞失衡,尤其是 Th2 细胞的活化是哮喘发病的免疫机制中的关键环节,调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)具有抑制 Th2 细胞活性的功能,在哮喘的防治中占有重要地位^[5]。近年研究证实 Th17 细胞类细胞因子在重症或难治性哮喘发病中有重要作用,尤其与中性粒细胞性哮喘发病密切相关^[6-8]。而色氨酸分解代谢的限速酶吲哚胺 2,3 双加氧酶(indoleamine 2,3 dioxygenase,IDO),在一定条件下是 Th17 细胞向 Treg 转换的分子“开关”^[9-10]。因此 IDO 介导的色氨酸代谢可能参与 Treg/Th17 细胞分化。本文就 IDO、Treg/Th17 分化与中性粒细胞性哮喘可能关系综述如下。

1 Treg、Th17 细胞与中性粒细胞性哮喘

多种免疫细胞(Th1、Th2、Th17 及 Treg 细胞)和细胞因子参与了哮喘发病。目前认为,Th2 细胞与嗜酸性粒细胞性哮喘密切相关,而 Th17 细胞在中性粒细胞性哮喘发病的免疫机制中起着重要作用^[11-13]。Treg 可抑制 Th2 及 Th17 细胞活化,Foxp3⁺是其主要的调控基因,CD4⁺CD25⁺Treg 在外周免疫耐受中起着关键作用。变应原特异性免疫治疗(SIT)是目前唯一有效的针对哮喘病因的预防治疗,SIT 能有效防治哮喘也是由于变应原的反复刺激诱导了体内可诱导 Treg(inducible Treg, iTreg)产生。目前较多文献证实哮喘发生的免疫机制正是由于 Treg 功能受到抑制、Th2 细胞活化导致机体产生嗜酸性粒细胞炎症,以及 Th17 细胞活化导致机体产生中性粒细胞性炎症^[12,14-15]。因此 Treg 诱导气道免疫耐受在哮喘防治中占有重要地位^[16-17],其作用机制可能与表达细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)分泌 IL-10、转化生长因子 β(TGF-β)等细胞因子有关^[18-19]。

中性粒细胞性哮喘是按哮喘气道炎症表型分类的一种哮喘,目前没有统一定义,加拿大 Nair 等^[20]将诱导痰中中性粒细胞计数持续(至少有 2 次)大于细胞总数的 65%,或绝对计

数大于 5.0×10^6 /mL 的哮喘定义为中性粒细胞哮喘。这种类型哮喘临床上往往多是重症或激素抵抗性哮喘,并且气道炎症细胞以中性粒细胞为主,Th17 细胞比例远远高于 Th2 细胞^[21]。Th17 细胞是 2005 年发现的 CD4⁺T 细胞亚群,以分泌 IL-17 为特征,独核受体-γt(ROR-γt)是其重要转录因子^[22]。Nakagome 等^[23]在卵蛋白致敏小鼠哮喘动物模型中证实,反复给予抗 IL-17 抗体可以显著减少骨髓外周血和肺泡灌洗液(BALF)的中性粒细胞数量。除动物模型实验外,AI-Ramli 等^[24]发现在哮喘患者肺组织中 IL-17 大量表达,并且表达量与哮喘严重程度有关,在那些激素抵抗性哮喘患者这一现象更为明显。Kerzel 等^[25]在儿童重症哮喘患者的肺泡灌洗液中检测到大量 IL-17。IL-17 可激活上皮细胞分泌 CXCL8 蛋白趋化募集中性粒细胞形成中性粒细胞炎症。因此 Th17 细胞介导的免疫反应导致气道内中性粒细胞的增多和募集,在中性粒细胞哮喘形成占有重要地位^[13,26]。此外,IL-17 还参与了其他的哮喘发病机制,包括上皮细胞的结构改变、黏液分泌增加、气道高反应性及平滑肌的收缩等^[27-30]。因此,通过抑制 Th17 细胞活来防治中性粒细胞哮喘,引起了研究者们极大的兴趣。但遗憾的是,Busse 等^[31]在 300 多例中度哮喘患者中用 3 种剂量的抗 IL-17A 的单克隆抗体药物(brodalumab)皮下注射,在为期 10 周的疗程中并未发现该药对哮喘治疗有效,与安慰剂治疗组相比较无显著差异。但是将 IL-17A 的单克隆抗体药物用于中性粒细胞性哮喘的研究,目前尚无研究涉及。

2 IDO 与 Treg/Th17 分化

肺部树突状细胞(dendritic cells, DC)是气道最有效的抗原呈递细胞。机体初次接触过敏原,树突状细胞摄取过敏原后被激活,提呈抗原,刺激初始型(Naive)CD4⁺T 淋巴细胞增殖,产生特异记忆性 CD4⁺T 细胞;当机体再次接触该过敏原,特异记忆性 CD4⁺T 淋巴细胞分化为效应性 T 细胞,并刺激其他细胞释放炎症细胞因子,启动了哮喘的发生。健康人肺部在反复吸入过敏原后,体内由于存在某种免疫耐受机制,CD4⁺T 淋巴细胞分化成 Treg,避免了哮喘发生。

目前研究证实中性粒细胞性哮喘发生时,气道 CD4⁺T 细胞通过 CD40 配基与气道 DC 上的共刺激分子 CD40 结合,并在一定的细胞因子(IL-1β、TGF-β 及 IL-6)微环境下,上调 ROR-γt 转录基因,使 CD4⁺T 细胞向 Th17 细胞分化,产生 IL-17,募集中性粒细胞至气道,并释放 IL-23 等炎症细胞因子,启动哮喘的发生^[7,32-33]。因此中性粒细胞哮喘的发生是由于 CD4⁺T 细胞向 Treg 分化减弱,而向 Th17 细胞分化增强,即 Th17/Treg 分化失衡,如果能逆转在中性粒细胞哮喘中的

Th17/Treg 分化失衡,有望对其有治疗作用。然而,哮喘发病机制极为复杂,CD4⁺ T 淋巴细胞向何种细胞分化,除了与呈递的抗原种类、数量及细胞因子微环境外,还可能与呈递抗原的 DC 亚群有关。Vroman 等^[7]研究证实气道 CD4⁺ T 细胞向效应性 T 细胞或 Treg 分化取决于提呈抗原的不同 DC 亚群,已证实气道内类浆细胞样 DC(plasmacytoid DC, pDC)亚群可诱导 Treg 产生,从而抑制 Th1、Th2 和 Th17 细胞的活化,形成免疫耐受;髓样 DC(myeloid DC, mDC)亚群可诱导效应性 T 细胞形成,产生炎症反应;但是气道 pDC 诱导 Treg 分化的机理还不清楚。有趣的是,小鼠脾来源 CD8 α ⁺ DC 及人外周血单核细胞来源的 CD123⁺ CCR6⁺ DC 2 种 DC 亚群能大量分泌 IDO,通过抑制 T 细胞增殖及介导 T 细胞凋亡,诱导 Treg 产生,在外周诱导和维持 T 细胞耐受^[34]。

IDO 是色氨酸分解代谢的限速酶,在外周免疫耐受中有重要作用,其在妊娠、器官移植及肿瘤免疫耐受的作用已成为近年研究热点,目前在对肺部真菌感染发现,IDO 及其代谢产物犬尿酸可以促进叉头状螺旋转录调节因子(FOXP3⁺)基因转录诱导 Treg 生成,而同时抑制 ROR γ t 基因而抑制 Th17 细胞产生,从而导致 Th17/Treg 分化失衡而使气道对真菌发生耐受使气道炎症迁延不愈^[35]。Bettelli 等^[10]在《Nature》杂志上发表文章认为小鼠体内 Th17 和 iTreg 产生于同一前体细胞-CD4⁺ Foxp3⁺ 的 T 细胞,当加入 TGF- β 时,此细胞转化为 Foxp3⁺ 的 Treg 细胞;但是当加入 TGF- β 和 IL-6 时,此 CD4⁺ Foxp3⁺ 的 T 细胞转化为 Th17 细胞,表明 IL-6 作为关键细胞因子决定 CD4⁺ Foxp3⁺ T 细胞是转化为 Treg 还是 Th17 细胞。有趣的是,Baban 等^[36]报道在 IL-6 基因敲出的大鼠静脉注射 IDO 诱导剂免疫刺激序列寡脱氧核苷酸(ISS-ODN)后,发现在脾脏 Treg 增多,而皮下注射 IDO 抑制剂 1-甲基色氨酸(1-MT)后可使脾脏 pDC 表达 IL-6,从而使 Treg 向 Th17 细胞转化。因此在一定条件下 IDO 可作为 Th17 细胞向 Treg 转换的分子“开关”,这为防治中性粒细胞哮喘带来新的思路。An 等^[37]已证实转 IDO 基因的未成熟 DC 可减轻致敏气道的过敏性炎症反应。

3 IDO、Treg/Th17 与中性粒细胞哮喘

IDO+pDC 是一种体内数量较少的具有分泌表达 IDO 能力的 pDC 亚群(IDO-competent pDCs)。目前有关 IDO+pDC 研究多集中在大鼠的肝、脾、淋巴结引流区中的 DC。Kahler 等^[38]发现 IDO+pDC 除了高表达 CD11c 及 B 细胞特征性标志 CD19,并且在抗原刺激下通过分泌表达 IDO 介导 Th 细胞抑制及 Treg 活化。Shao 等^[39]在大鼠气道炎症模型证实,用 Flt3 配基处理肺部 DC 后发现:气道高表达 CD11c 的 CD11c 高 CD11b 低 DC 亚群具有耐受原性可抑制 Th2 细胞产生,从而抑制气道高反应性。Taher 等^[40]在变应原特异性免疫治疗模型中证实用 IDO 抑制剂 1-MT 腹腔注射后可使气道中的嗜酸性细胞减少及 Th2 类细胞因子增高,表明 IDO 及代谢产物可增强变应原特异性免疫治疗作用。气道 IDO 主要表达在淋巴区域的巨噬细胞及 DC 上,同时 DC 是气道最有效的抗原呈递细胞(APC),因此在哮喘发生时,机体除了与抗原摄入的种类及量,环境及个体差异有关外,还与体内(特别是气道)是否缺乏 IDO+pDC 亚群有关。以至于在中性粒细胞哮喘形成过程中,T 淋巴细胞发生免疫应答时,由于缺乏 IDO,使 TH0 细胞向 TH17 细胞分化,而不向 Treg 分化,或者 Th17 细胞不能向 Treg 转换,从而导致气道以中性粒细胞炎症为主。而目前关于这种 IDO+pDC 亚群与前述气道 CD11c 高 CD11b 低 DC

亚群是否为同一 DC 亚群,有何关系,目前均不甚清楚。

4 展 望

综上所述,Th17 细胞与中性粒细胞性哮喘密切相关,中性粒细胞哮喘存在 Treg/Th17 失衡,IDO 在一定条件下是 Th17 细胞向 Treg 转换的分子“开关”,IDO+pDC 是体内数量较少的一种具有分泌表达 IDO 能力的 pDC 亚群。阐明 IDO(包括 IDO+pDC 亚群)、Treg/Th17 分化与中性粒细胞性哮喘三者的关系对于研究中性粒细胞哮喘的发生机制及哮喘防治有重要意义。

参考文献

- [1] Simpson JL, Scott R, Boyle MJ, et al. Inflammatory subtypes in asthma: Assessment and identification using induced sputum[J]. *Respirology*, 2006, 11(1): 54-61.
- [2] Chung KF, Wenzel SE, Brozek JL, et al. International ERS/ATS guidelines on definition, evaluation and treatment of severe asthma[J]. *Eur Respir J*, 2014, 43(2): 343-373.
- [3] Hastie AT, Moore WC, Meyers DA, et al. Analyses of asthma severity phenotypes and inflammatory proteins in subjects stratified by sputum granulocytes[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(5): 1028-1036.
- [4] Moore WC, Hastie AT, Li XN, et al. Sputum neutrophil counts are associated with more severe asthma phenotypes using cluster analysis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(6): 1557.
- [5] Maazi H, Shirinbak S, Willart M, et al. Contribution of regulatory T cells to alleviation of experimental allergic asthma after specific immunotherapy[J]. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42(10): 1519-1528.
- [6] Chesne J, Braza F, Mahay G, et al. IL-17 in severe asthma where do we stand? [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190(10): 1094-1101.
- [7] Vroman H, Van den blink B, Kool M. Mode of dendritic cell activation; the decisive hand in Th2/Th17 cell differentiation. implications in asthma severity[J]. *Immunobiology*, 2015, 220(2): 254-261.
- [8] Irvin C, Zafar I, Good J, et al. Increased frequency of dual-positive T(H)2/T(H)17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(5): 1175.
- [9] Nyirenda MH, Sanvito L, Darlington PJ, et al. TLR2 stimulation drives human naive and effector regulatory T cells into a Th17-Like phenotype with reduced suppressive function[J]. *J Immunol*, 2011, 187(5): 2278-2290.
- [10] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the Generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells[J]. *Nature*, 2006, 441(790): 235-238.
- [11] Morishima Y, Ano S, Ishii Y, et al. Th17-associated cytokines as a therapeutic target for steroid-insensitive asthma [J]. *Clin Dev Immunol*, 2013: 609395.
- [12] Choy DF, Hart KM, Borthwick LA, et al. T(H)2 and T(H)17 inflammatory pathways are reciprocally regulated

- in asthma[J]. *Sci Transl Med*, 2015, 7(31):301.
- [13] Cosmi L, Liotta F, Maggi E, et al. Th17 cells; new players in asthma pathogenesis [J]. *Allergy*, 2011, 66(8): 989-998.
- [14] Ji NF, Xie YC, Zhang MS, et al. Ligustrazine corrects Th1/Th2 and Treg/Th17 imbalance in a mouse asthma model[J]. *Int Immunopharmacol*, 2014, 21(1):76-81.
- [15] Shi YH, Shi GC, Wan HY, et al. Coexistence of Th1/Th2 and Th17/Treg imbalances in patients with allergic asthma[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2011, 124(13):1951-1956.
- [16] Stelmaszczyk-Emmel A. Regulatory T cells in children with allergy and asthma; It is time to act [J]. *Respir Physiol Neurobiol*, 2015, 209(Suppl 1):59-63.
- [17] Langier S, Sade K, Kivity S. Regulatory T cells in allergic asthma[J]. *Isr Med Assoc J*, 2012, 14(3):180-183.
- [18] Palomares O, Yaman G, Azkur AK, et al. Role of Treg in immune regulation of allergic diseases[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(5):1232-1240.
- [19] Choi IS. Immune tolerance by induced regulatory T cells in asthma[J]. *Allergy Asthma Immunol Res*, 2012, 4(3): 113-115.
- [20] Nair P, Afia Aziz-Ur-Rehman A, Radford K. Therapeutic implications of neutrophilic asthma[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2015, 21(1):33-38.
- [21] Newcomb DC, Peebles J. Th17-mediated inflammation in asthma[J]. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25(6):755-760.
- [22] Durrant DM, Metzger DW. Emerging roles of T helper subsets in the pathogenesis of asthma[J]. *Immunol Invest*, 2010, 39(4/5):526-549.
- [23] Nakagome K, Imamura M, Okada HA, et al. Dopamine D1-Like receptor antagonist attenuates Th17-Mediated immune response and ovalbumin Antigen-Induced neutrophilic airway inflammation[J]. *J Immunol*, 2011, 186(10):5975-5982.
- [24] Al-Ramli W, Préfontaine D, Chouiali F, et al. TH17-associated cytokines (IL-17A and IL-17F) in severe asthma [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 123(5):1185-1187.
- [25] Kerzel S, Dehne J, Rogosch T, et al. T(H)17 cell frequency in peripheral blood from children with allergic asthma correlates with the level of asthma control[J]. *J Pediatr*, 2012, 161(6):1172-1174.
- [26] Aujla SJ, Alcorn JF. Th17 cells in asthma and inflammation[J]. *Biochem Biophys Acta*, 2011, 1810(11):1066-1079.
- [27] Hallstrand TS, Lai Y, Altemeier WA, et al. Regulation and function of epithelial secreted phospholipase a(2) group X in asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(1):42-50.
- [28] Bellini A, Marini MA, Bianchetti L, et al. Interleukin (IL)-4, IL-13, and IL-17A differentially affect the profibrotic and proinflammatory functions of fibrocytes from asthmatic patients [J]. *Mucosal Immunol*, 2012, 5(2): 140-149.
- [29] Zhao J, Lloyd CM, Noble A. Th17 responses in chronic allergic airway inflammation abrogate regulatory T-cell-mediated tolerance and contribute to airway remodeling [J]. *Mucosal Immunol*, 2013, 6(2):335-346.
- [30] Chang Y, Al-Alwan L, Risse PA, et al. T(H)17 cytokines induce human airway smooth muscle cell migration[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(4):U311-1046.
- [31] Busse WW, Holgate S, Kerwin E, et al. Randomized, Double-Blind, placebo-controlled study of brodalumab, a human Anti-IL-17 receptor monoclonal antibody, in moderate to severe asthma[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 188(11):1294-1302.
- [32] Iezzi G, Sonderegger I, Ampenberger FA, et al. CD40-CD40L cross-talk integrates strong antigenic signals and microbial stimuli to induce development of IL-17-producing CD4(+) T cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(3):876-881.
- [33] Huang G, Wang Y, Chi H. Regulation of Th17 cell differentiation by innate immune signals[J]. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9(4):287-295.
- [34] Fallarino F, Vacca C, Orabona C, et al. Functional expression of indoleamine 2,3-dioxygenase by murine CD8 alpha(+) dendritic cells[J]. *Int Immunol*, 2002, 14(1):65-68.
- [35] Romani L, Zelante T, De Luca AA, et al. IL-17 and therapeutic kynurenines in pathogenic inflammation to fungi [J]. *J Immunol*, 2008, 180(8):5157-5162.
- [36] Baban B, Chandler PR, Sharma MD, et al. IDO activates regulatory T cells and blocks their conversion into Th17-Like T cells[J]. *J Immunol*, 2009, 183(4):2475-2483.
- [37] An XJ, Bai CX, Xia JB, et al. IDO-expressing immature DCs suppress ovalbumin-induced allergic airway inflammation in mice [J]. *J Investig Allergol Clin Immunol*, 2011, 21(3):185-192.
- [38] Kahler DJ, Mellor AL. T cell regulatory plasmacytoid dendritic cells expressing indoleamine 2,3 dioxygenase [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009(188):165-196.
- [39] Shao ZF, Bharadwaj AS, Mcgee HS, et al. Fms-like tyrosine kinase 3 ligand increases a lung DC subset with regulatory properties in allergic airway inflammation[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2009, 123(4):917-924.
- [40] Taher YA, Piavaux BJ, Gras R, et al. Indoleamine 2,3-dioxygenase-dependent tryptophan metabolites contribute to tolerance induction during allergen immunotherapy in a mouse model[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(4): 983-991.