

- moradiotherapy in vitro[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 443(3):789-795.
- [19] 许庆文,周才进,鲁珏,等. MicroRNA-21 靶向 PDCD4 对胃癌细胞增殖及凋亡的影响[J]. *实用肿瘤杂志*, 2013, 28(6):592-596.
- [20] Wu MF, Yang J, Xiang T, et al. miR-21 targets Fas ligand-mediated apoptosis in breast cancer cell line MCF-7[J]. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2014, 34(2):190-194.
- [21] Wang W, Li J, Zhu W, et al. MicroRNA-21 and the clinical outcomes of various carcinomas: a systematic review and meta-analysis[J]. *BMC cancer*, 2014, 14(1):819.
- [22] Zhu W, Xu B. MicroRNA-21 identified as predictor of cancer outcome: a meta-analysis[J]. 2014, 9(8):103373.
- [23] Pan F, Mao H, Deng L, et al. Prognostic and clinicopathological significance of microRNA-21 overexpression in breast cancer: a meta-analysis[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(9):5622-5633.
- [24] Wang Z, Cai Q, Jiang Z, et al. Prognostic role of microRNA-21 in gastric cancer: a meta-analysis[J]. *Med Sci Monit*, 2014(20):1668-1674.
- [25] Marquez RT, Bandyopadhyay S, Wendlandt EB, et al. Correlation between microRNA expression levels and clinical parameters associated with chronic hepatitis C viral infection in humans[J]. *Lab Invest*, 2010, 90(12):1727-1736.
- [26] Yang X, Wang J, Guo SL, et al. miR-21 promotes keratinocyte migration and re-epithelialization during wound healing[J]. *Int J Biol Sci*, 2011, 7(5):685-690.
- [27] Madhyastha R, Madhyastha H, Nakajima Y, et al. MicroRNA signature in diabetic wound healing: promotive role of miR-21 in fibroblast migration[J]. *Int Wound J*, 2012, 9(4):355-361.
- [28] Kantharidis P, Wang B, Carew RM, et al. Diabetes complications: the microRNA perspective[J]. *Diabetes*, 2011, 60(7):1832-1837.
- [29] Wang G, Kwan BC, Lai FM, et al. Urinary miR-21, miR-29, and miR-93: novel biomarkers of fibrosis[J]. *Am J Nephrol*, 2012, 36(5):412-418.
- [30] Xu WD, Pan HF, Li JH, et al. MicroRNA-21 with therapeutic potential in autoimmune diseases[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2013, 17(6):659-665.

(收稿日期:2016-07-18 修回日期:2016-09-22)

• 综述 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.01.033

CD4⁺CD25⁺FoxP3 调节性 T 细胞在肾病综合征中扮演的角色

任朝臣 综述, 杨 垒[△] 审校

(遵义医学院附属医院泌尿外科, 贵州遵义 563000)

[关键词] 肾病综合征; CD4⁺CD25⁺FoxP3 调节性 T 细胞; 免疫机制

[中图分类号] R726.9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)01-0123-03

肾病综合征(nephrotic syndrome, NS)是一种常见肾病,以大量蛋白尿、低蛋白血症、高脂血症和水肿为临床特征。目前认为,免疫紊乱是 NS 发病机制的核心,但其具体发病机制至今仍未阐明。近年来,关于 NS 发病机制的探索越来越多。CD4⁺CD25⁺FoxP3 调节性 T 细胞(Treg)在免疫调节中的作用被大多学者所认识,尤其是在免疫耐受方面,其功能异常与许多疾病的发生、治疗效果等相关,其中就包括 NS。

1 NS 发病机制中的免疫机制

早在 1974 年就有人发现,麻疹病毒感染使微小病变型肾病的病情得到了缓解,故从此提出了免疫紊乱在 NS 发病机制及治疗等方面的可能关系。随后,关于细胞免疫,特别是 T 细胞亚群失衡与 NS 发病及治疗的研究逐渐增多。

与健康人相比,NS 患者外周血中, Th17 的数量明显增加,而 Treg 的数量则明显减少^[1]。Th17 细胞相关的细胞因子(如 IL-17、IL-23)、转录因子(RORγt)水平增加,而 Treg 细胞相关的细胞因子(如 TGF-β₁、IL-10)、转录因子(Foxp3)的水平则明显减少,同时, Th17 细胞/Treg 比值也升高,这提示 Th17 细胞与 Treg 之间的失衡在 NS 的发病机制中发挥作用^[2]。在激素抵抗型 NS(SRNS)中, Th1 细胞与正常对照组相似, Th2 比激

素敏感型(SSNS)及正常对照组均高,且激素抵抗型 Th1/Treg 比激素敏感型及正常对照组均高;而 Th1/Th2 在 SSNS、SRNS、正常对照组则相似,SSNS 治疗缓解后 IL-10、TGF-β 含量增加,而 Th1、Th2 减少^[3]。这揭示了 Th1、Th2 细胞与 Treg 细胞之间的紊乱也参与了 NS 的发病。

以上结果表明,免疫细胞及其相关细胞因子的紊乱与 NS 发病密切相关。

2 Treg 细胞的免疫抑制功能及其与 NS 的相关性

2.1 Treg 细胞简介及其免疫抑制机制 Treg 细胞是一类能够调控免疫功能、维持免疫耐受,从而保持机体免疫稳态的细胞群。该类细胞以表达 CD4、CD25、FoxP3 为细胞表型特征。目前,相关研究已经证实了 Treg 细胞在感染、肿瘤、同种异体器官移植、胎盘免疫等方面具有抑制各种途径的病理生理免疫应答的作用。

Treg 细胞可发源于胸腺,也可以由外周的 T 细胞分化而来^[4],可分为自然型(nTreg)和诱导型(iTreg)。通过对比健康者及患有自身免疫性疾病的患者,有人发现只有健康者体内有 Treg 细胞,而后者没有,说明 Treg 细胞对于维持自身免疫耐受非常重要^[5]。

Treg 细胞通过上调 IL-2 受体(如 CD25)的表达,结合并消耗 IL-2,减少其他类型 T 细胞与 IL-2 的结合,从而影响其活化增殖。如果缺少了 IL-2 及 Treg 细胞,树突状细胞将会激活并使其他类型 T 细胞增殖^[6],从而导致免疫紊乱。Foxp3⁺ Treg 细胞通过产生免疫抑制因子如 IL-10、TGF- β 、IL-35 等抑制普通 T 细胞,相关细胞因子同时也促进了 Treg 细胞的增殖^[7-8],从而增强 Treg 细胞的免疫调节作用。Treg 还通过颗粒酶 B 和穿孔素-1 杀伤靶细胞。细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原-4(CTLA-4)是一个重要的免疫负性调节蛋白。Wing 等^[9]的研究发现,Treg 细胞特异性表达共抑制分子 CTLA-4,与树突状细胞直接接触后,下调其表面分子 CD80 和 CD86 的表达,通过影响抗原提呈细胞激活其他类型的 T 细胞而发挥免疫抑制作用。若 CTLA-4 基因的缺陷导致 CTLA-4 表达的减少,将会影响 Treg 细胞与 B 细胞的平衡,从而引起表现为反复感染、低丙种球蛋白血症等为特征的常染色体免疫失调综合征^[10]。这从分子学的角度证实了 Treg 细胞在免疫抑制作用中的重要性。CTLA-4 还能诱导树突状细胞产生吲哚胺 2,3-双加氧酶,催化色氨酸分解为犬尿素导致周围细胞死亡。

Treg 细胞可能还通过其他机制来调节免疫平衡。如糖尿病发病机制的研究中,Cipolletta 等^[11]证实,Treg 细胞通过表达过氧化物酶体增殖物激活受体(PPAR),使胰岛素抵抗的小鼠对噻唑烷二酮类降糖药物重新建立起了胰岛素敏感性。同时也为治疗糖尿病提供了可能靶点。

2.2 Treg 细胞与 NS 的相关性 王莉等^[12]的研究发现,在儿童 NS 中,单纯型 NS(SNS)及肾病型 NS(NNS)外周血中 Treg 百分比显著低于正常对照组,其中,NNS 组又显著低于 SNS 组,Treg 相关细胞因子 TGF- β 1 的数量亦显著低于正常对照组。类似提示 NS 患者 Treg 减少的研究还有很多。通过免疫组织化学发现,在局灶节段硬化性肾病(FSGS)患者的肾脏病理中 Treg 细胞也明显比对照组减少^[13]。Wolf 等^[14]在给抗-GBM 肾病模型小鼠注射了 Treg 细胞后,CD4⁺、CD8⁺ T 细胞及巨噬细胞的渗透明显减少,减轻了肾小球的损伤,提示了 Treg 细胞通过细胞免疫抑制比体液免疫抑制发挥更为重要的作用。免疫失调综合征(IPEX)的核心发病机制为 Treg 基因缺陷,可合并 NS,也佐证了 Treg 细胞在 NS 发病机制中的作用^[15]。IL-2 使转录因子 STAT5 磷酸化,上调 FoxP3 基因的表达,使 Treg 细胞中 FoxP3 的转录增加^[16]。这些,无不揭示着 NS 与 Treg 细胞之间的密切关系。

但是,也有人研究提示,在膜性肾病患者外周血中 Treg 细胞数量却较健康人多^[17]。可能是膜性肾病发生后,为发挥免疫抑制作用,Treg 细胞代偿性增多,也可能是因当时研究者对 Treg 的标记仅有 CD4、CD25,而无 FoxP3,同时,这也可能提示着不同病理类型可导致 Treg 细胞的不同变化,这值得进一步研究。还有其他类似 NS 患者 Treg 细胞数量增加的报道^[18]。有趣的是,还有学者的研究提示,NS 患者血中的 Treg 细胞数量与对照组并无差别,激素治疗前后 Treg 细胞也没改变^[19],这是否提示 Treg 细胞根本就不参与 NS 的发病呢?这也是值得思考的。

3 NS 的治疗与 Treg 细胞的可能联系

初诊 NS 患者的 Treg 细胞数量明显减少,且其水平变化与疾病严重程度及治疗效果相关,这提示了提升 Treg 细胞数量及其功能可能为治疗 NS 的一条新途径^[20]。静脉注射甲基泼尼龙治疗表现为严重蛋白尿的狼疮肾炎儿童患者后,试验组

外周血中 Treg 细胞的数量明显增加,蛋白尿亦得到明显缓解^[21],提示 Treg 细胞的增加对缓解蛋白尿起着重要作用。利妥昔单抗可以使外周血中的 Treg 细胞升高,哪怕是一开始对利妥昔单抗产生过敏反应的患者,经过脱敏治疗后也能达到良好疗效,提示 Treg 在免疫耐受中的重要作用^[22]。NS 患者外周血单核细胞(PBLs)表面 P-gp 明显比缓解者高,激素治疗可诱导 PBLs 表面 P-gp 的下调,增加 Treg 及其细胞因子的表达,而减少 Th1、Th2 的数量^[7]。给胰岛移植的小鼠注入 Treg 细胞后,可以显著减少供体物种的 CD8⁺ T 细胞,从而控制同种异体排斥反应^[23]。曹江等^[24]在对小鼠进行异基因骨髓移植时联合输注基因工程的 Treg 细胞提示可以有效减少移植物抗宿主病(GVHD)的发生。近期研究发现,在同种异体造血干细胞移植后,IL-35 表达的增加,可能损害 CD4⁺ T 细胞,增加了 IL-10、Treg 细胞的数量,从而抑制了移植物抗宿主反应,这提示通过细胞因子治疗移植物抗宿主反应的可能^[25]。我国学者的研究也证实,西罗莫司通过下调 IL-1 β 、IL-6、IL-17、IFN- γ ,抑制了 Th1、Th17 细胞,增加了 Treg 细胞的数量,改善了肾功能,从而改善了肾移植患者后的排斥反应^[26],为相关免疫抑制剂用于 NS 的治疗提供了证据。黑色素瘤的患者,通过大剂量 IL-2 处理后,血中 Treg 细胞数量增加,患者相应表现出不好的临床表现^[27],提示 Treg 所表现的免疫抑制作用可能增加了肿瘤细胞的扩散。如前所述,Treg 细胞与 B 细胞之间的平衡紊乱参与 NS 的发病机制,以此为切入点,Kamburova EG 及 Ilse M Rood 的研究证实,大剂量的利妥昔单抗通过消耗血液及次级淋巴中的 B 细胞,从而使激素依赖的、复发型的 NS 得到了缓解^[28-29],这可能是相对增加了 Treg 细胞数量,重新建立了 Treg 与 B 细胞之间平衡的结果。

综上所述,使动物模型及人体的 Treg 细胞及其细胞因子恢复重新平衡,为多种免疫性疾病的治疗提供能新的治疗靶点。同时,免疫抑制亦是一把双刃剑,Treg 的免疫抑制作用对于自身免疫性疾病固然难能可贵,但同时也会引起不良后果,如肿瘤的产生即可能与之相关^[27]。

4 展望与猜想

目前鲜有研究 Treg 细胞治疗 NS。有研究表明,给 NS 模型小鼠注射 Treg 细胞后,小鼠蛋白尿得到了缓解。Treg 细胞可以通过体内扩增、体外扩增等方式得到,目前已经证实,于初始状态或静息状态的 Treg 细胞,在高浓度 IL-2 和抗原刺激条件下扩增并表达 FoxP3,同时该条件下效应 T 细胞会发生凋亡。临床上也证实了,使用小剂量 IL-2 治疗 GVHD 和 HCV 相关的血管炎是有效的,类似的疗法也有人用于类风湿关节炎的小鼠实验模型。但是,目前还没有关于 Treg 细胞治疗人体 NS 的报道,结合以上 Treg 细胞与 NS 发病机制、激素及免疫抑制剂治疗之间的关系,是否可以通过 Treg 细胞的直接使用而达到对 NS 的治疗,这是具有重要临床价值的一个探讨,值得更进一步的研究。

参考文献

- [1] Xiao SS, Yang XQ, Zhao XD, et al. the prevalence of Th17 cells and FOXP3 regulate T cells (Treg) in children with primary nephrotic syndrome[J]. *Pediatr Nephrol*, 2009, 24 (9): 1683-1690.
- [2] Liu LL, Qin Y, Cai JF, et al. Th17/Treg imbalance in adult patients with minimal change nephrotic syndrome

- [J]. *Clin Immunol*, 2011, 139(3): 314-320.
- [3] Jaiswal A, Prasad N, Agarwal V, et al. Regulatory and effector T cells changes in remission and resistant state of childhood nephrotic syndrome [J]. *Indian J Nephrol*, 2014, 24(6): 349-355.
- [4] Fantini MC, Dominitzki S, Rizzo AA, et al. In vitro Generation of CD4⁺ CD25⁺ regulatory cells from murine naive T cells [J]. *Nat Protoc*, 2007, 2(7): 1789-1794.
- [5] Kristen LM. For the immune system, silence is golden [J]. *Sci Signal*, 2014, 7(375): ec360.
- [6] Bolton HA, Roediger B, de Stroth BF. The effects of IL-2 and Treg cells on dendritic cell homeostasis are mediated indirectly via activation of conventional T cells [J]. *Eur J Immunol*, 2015, 45(4): 1141-1147.
- [7] Prasad N, Jaiswal AK, Agarwal V, et al. Differential alteration in peripheral T-regulatory and T-effector cells with change in P-glycoprotein expression in Childhood Nephrotic Syndrome; a longitudinal study [J]. *Cytokine*, 2015, 72(2): 190-196.
- [8] Castellani ML, Anogeianaki A, Felaco P, et al. IL-35, An anti-inflammatory cytokine which expands CD4⁺ CD25⁺ Treg cells [J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2010, 24(2): 131-135.
- [9] Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, et al. CTLA-4 control over Foxp3⁺ regulatory T cell function [J]. *Science*, 2008, 322(5899): 271-275.
- [10] Schubert D, Bode C, Kenefack R, et al. Autosomal dominant immune dysregulation syndrome in humans with CTLA4 mutations [J]. *Nat Med*, 2014, 20(12): 1410-1416.
- [11] Cipolletta D, Feuerer EA. PPAR- γ is a major driver of the accumulation and phenotype of adipose tissue Treg cells [J]. *Nature*, 2012, 486(7404): 535-549.
- [12] 王莉, 李秋, 王莉佳, 等. 原发性肾病综合征患儿外周血 Th17 与 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 调节性 T 细胞的水平 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2010, 26(8): 783-786.
- [13] Benz K, Buettner M, Dittrich K, et al. Characterisation of renal immune cell infiltrates in children with nephrotic syndrome [J]. *Pediatr Nephrol*, 2010, 25(7): 1291-1298.
- [14] Wolf D, Hohegger K, Wolf AM, et al. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells inhibit experimental anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis in mice [J]. *J Am Society Nephrol*, 2005, 16(5): 1360-1370.
- [15] Joseph SY, Habib P. Minimal change nephrotic syndrome associated with immunodysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome [J]. *Pediatr Nephrol*, 2009, 16(4): 267-276.
- [16] Wuest TY, Willette-Brown J, Durum SK, et al. The influence of IL-2 family cytokines on activation and function of naturally occurring regulatory T cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2008, 84(4): 973-980.
- [17] 杨莉, 田庚, 卢雪红, 等. 86 例膜性肾病回顾性分析及对 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的初步研究 [J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2009, 10(12): 1063-1065.
- [18] 毕玉娜, 嵯金花, 尹立岩, 等. 原发性肾病综合征患儿外周血 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞及 CD19⁺ CD23⁺ 细胞水平的变化及其意义 [J]. *实用儿科临床杂志*, 2012, 27(5): 349-350, 353.
- [19] 丁楠, 郝丽, 黎淮, 等. 原发性肾病综合征患者免疫指标变化的临床意义探讨 [J]. *中国免疫学杂志*, 2011, 27(4): 356-359, 381.
- [20] 于金香, 刘云启, 王艳春. 肾病综合征患者外周血中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的表达和意义 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2010, 26(12): 929.
- [21] Tsai YG, Lee CY, Lin TY, et al. CD8⁺ Treg cells associated with decreasing disease activity after intravenous methylprednisolone pulse therapy in lupus nephritis with heavy proteinuria [J]. *PLoS One*, 2014, 9(1): 1-12.
- [22] Aydogan M, Yologlu N, Gacar G, et al. Successful rapid rituximab desensitization in an adolescent patient with nephrotic syndrome: increase in number of Treg cells after desensitization [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2013, 132(2): 478-480.
- [23] Lee K, Nguyen V, Lee KM, et al. Attenuation of Donor-Reactive T cells allows effective control of allograft rejection using regulatory T cell therapy [J]. *Am J Transplant*, 2014, 14(1): 27-38.
- [24] 曹江, 李莉, 陈琳, 等. 基因工程 Treg 细胞对小鼠异基因骨髓移植后 GVHD 和 GVL 效应的影响 [J]. *中华器官移植杂志*, 2010, 31(12): 715-719.
- [25] Liu Y, Wu Y, Wang Y, et al. IL-35 mitigates murine acute graft-versus-host disease with retention of graft-versus-leukemia effects [J]. *Leukemia*, 2015, 29(4): 939-946.
- [26] Li Y, Shi YY, Liao Y, et al. Differential regulation of Tregs and Th17/Th1 cells by a sirolimus-based regimen might be dependent on STAT-signaling in renal transplant recipients [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 435-443.
- [27] Sim GC, Martin-Orozco N, Jin L, et al. IL-2 therapy promotes suppressive ICOS⁺ Treg expansion in melanoma patients [J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(1): 99-110.
- [28] Kamburova EG, Koenen HJ, Borgman KJ, et al. A single dose of rituximab does not deplete B cells in secondary lymphoid organs but alters phenotype and function [J]. *Am J Transplant*, 2013, 13(15): 3-11.
- [29] Rood IM, Huussen J, Wetzels JF, et al. Rituximab can induce remission of nephrotic syndrome in the absence of peripheral B-cells [J]. *Nephrology*, 2015, 20(9): 667-668.