

- [19] Nagappa M, Netravathi M, Taly AB, et al. Long-term efficacy and limitations of cyclophosphamide in myasthenia gravis. *J Clin Neurosci*, 2014, 21(11): 1909-1914.
- [20] Kosmidis PA, Iliopoulos E, Pentea S. Chemotherapy in thymoma and myasthenia gravis. *Cancer*, 1988, 61(9): 1736-1740.
- [21] Drachman DB, Adams RN, Hu R, et al. Rebooting the Immune System with High-Dose Cyclophosphamide for Treatment of Refractory Myasthenia Gravis. *Ann Ny Acad Sci*, 2008, 1132(1): 305-314.
- [22] Perez MC, Buot WL, Mercado-Danguilan C, et al. Stable remissions in myasthenia gravis. *Neurology*, 1981, 31(1): 32-37.
- [23] DeZem AE, Styler MJ, Drachman DB, et al. Repeated treatment with high dose cyclophosphamide for severe autoimmune diseases. *Am J Blood Res*, 2013, 3(1): 84.
- [24] Bromberg MB, Carter O. Corticosteroid use in the treatment of neuromuscular disorders: Empirical and evidence-based data. *Muscle Nerve*, 2004, 30(1): 20-37.
- [25] Cheong JS, Myong HJ. A Clinical Study on Crises in Myasthenia Gravis. *J Korean Med Assoc*, 1984, 2(1): 29-39.
- [26] Bae JS, Go SM, Kim BJ. Clinical predictors of steroid-induced exacerbation in myasthenia gravis. *J Clin Neurosci*, 2006, 13(10): 1006-1010.
- [27] Skeie GO, Apostolski S, Evoli A, et al. Guideline for the treatment of autoimmune neuromuscular transmission disorders. *Eur J Neurol*, 2006, 13(7): 691-699.
- [28] Hart IK, Sathasivam S, Sharshar T. Immunosuppressive agents for myasthenia gravis. *Cochrane Database Syst Rev*, 2007, (4): CD005224.
- [29] Gustavo De Feo L, Schottlender J, Martelli NA, et al. Use of intravenous pulsed cyclophosphamide in severe, generalized myasthenia gravis. *Muscle Nerve*, 2002, 26(1): 31-36.
- [30] 冯慧宇, 刘卫彬, 黄鑫, 等. 小剂量环磷酰胺联合糖皮质激素治疗 I/II 型重症肌无力的疗效与安全性观察. *中华医学杂志*, 2012, 33(92): 2323-2326.
- [31] 丛志强, 刘敏, 赵仁亮, 等. 非手术免疫抑制疗法治疗伴胸腺瘤的重症肌无力患者的远期疗效观察. *中华神经科杂志*, 1999, 32(5): 296-299.
- [32] 冯慧宇, 刘卫彬, 邱力, 等. 中剂量环磷酰胺联合甲泼尼龙治疗重症肌无力危象的随机对照临床研究. *中华医学杂志*, 2012, 92(35): 2473-2476.
- [33] 黄洞. 中剂量环磷酰胺联合甲基强的松龙治疗重症肌无力危象探讨. *中国实用神经疾病杂志*, 2011, 14(5): 38-39.
- [34] 唐白云, 杨圣良, 刘卫彬, 等. 甲泼尼龙联合环磷酰胺防治危重型重症肌无力术后危象. *中山大学学报(医学科学版)*, 2008, 27(B03): 213-215.
- [35] 吴涛, 涂来慧, 张仁琴. 伴胸腺瘤的重症肌无力患者治疗和预后. *中华神经科杂志*, 2001, 34(2): 84-87.

Th17 细胞与 Treg 细胞在肌肉疾病免疫机制中作用的研究进展

丛璐 综述 蒲传强 审校
解放军总医院神经内科 北京市 100853

摘要: 在原有的 Th17 细胞发挥促炎性作用及 Treg 细胞发挥免疫抑制作用的理论基础上,近年来,探寻 Th17 细胞和 Treg 细胞在多种免疫性疾病的发生、发展中所起到的作用已成为临床研究的一大热点。多项针对两种细胞的致病机制的研究表明, Th17 细胞和(或) Treg 细胞表达量的失衡可用来解释部分免疫性肌肉病的发病。本文从总结 Th17 细胞和 Treg 细胞的分化来源及相互作用的功能入手,对两种细胞在肌肉病免疫致病机制中的作用进行综述。

关键词: Th17 细胞; Treg 细胞; 肌肉疾病; 假肥大型肌营养不良; 多发性肌炎

近年来,在针对自身免疫性疾病的研究中发现,单纯用 Th1 细胞与 Th2 细胞的平衡理论已不能

完全解释其发病机制,继而关于两类新的 T 细胞亚群即辅助 T 细胞 17(Th17 细胞)和调节性 T 细胞

收稿日期: 2014-12-12; 修回日期: 2015-02-08

作者简介: 丛璐(1985-),女,解放军医学院神经病学博士研究生,主要从事神经肌肉病的研究。

通讯作者: 蒲传强(1958-),男,主任医师,博士研究生,主要从事神经系统疾病的诊治,尤其是肌病、脑血管病以及周围神经与肌肉病理学诊断技术的研究。E-mail: pucq3028@sina.cn。

(Treg 细胞) 在免疫性疾病发病机制中的作用逐渐成为研究热点。Th17 细胞分泌白细胞介素 17 (interleukin-17, IL-17) 介导炎症反应和自身免疫反应, 而 Treg 细胞表达 Foxp3 主要发挥免疫耐受或免疫抑制作用, 两者都来源于初始 T 细胞, 但其功能相互抑制, 它们在维持机体免疫平衡方面发挥重要作用。促炎性 Th17 细胞与抑制性 Treg 细胞之间平衡状态的打破是自身免疫性疾病发病的一个关键因素^[1]。因此, 调节 Th17 细胞与 Treg 细胞平衡成为治疗自身免疫性疾病的一个新靶点。目前, Th17/Treg 免疫失衡在炎症反应、感染性疾病、肿瘤、自身免疫性疾病和肌肉病等多种疾病的发生及发展中的作用都有报道。

1 Th17 细胞的分化来源及功能

Th17 细胞的分化发育过程与 Th1 和 Th2 细胞的分化发育过程相近, 受各种因素的协调控制, 目前的研究证实核受体 γ (ROR γ t) 是 Th17 细胞分化发育调控的较为重要的转录因子之一^[2], ROR γ t 的缺乏使初始 CD4⁺ T 细胞向 Th17 细胞分化的能力减弱, 相反 ROR γ t 大量表达可诱导编码 IL-17 和 IL-17F 细胞因子基因的表达, 诱导初始 CD4⁺ T 细胞高表达 IL-17、IL-17F 和 IL-22, 从而促进 Th17 细胞的分化。此外, 转化生长因子 β (TGF- β) 和 IL-6 是 Th17 细胞分化发育的启动者, 研究发现 IL-6 通过信号转导转录激活子 3 (STAT3) 诱导产生 IL-21, 在转化生长因子 β (TGF- β) 存在的条件下, IL-21 促进 Th17 细胞分化而抑制 Treg 细胞的分化^[3], TGF- β 和 IL-6 同时存在是 Th17 细胞分化启动的必要条件。IL-23 是 Th17 细胞分化发育的促进者, IL-23 对于 Th17 细胞的数量扩增以及维持是必需的细胞因子, 而干扰素- γ (interferon gamma, IFN- γ) 及 IL-4 则是 Th17 细胞分化的抑制者, 主要通过干扰 TGF- β 诱导 Th17 细胞的分化来发挥抑制作用。

Th17 细胞主要通过分泌多种细胞因子 (包括 IL-17A、IL-17B、IL-6、IL-22 及 INF- γ 等) 而发挥生物免疫作用, 分泌的这些细胞因子可以动员, 募集并活化中性粒细胞, 进而通过炎症反应抵抗病原微生物等。其中细胞因子 IL-17 是最重要的效应因子, IL-17 通过刺激靶细胞释放前炎症细胞因子及动员中性粒细胞发挥作用, 诱导 IL-6、一氧化氮 (NO) 和前列腺素 E2 (PGE2) 产生, 促进单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP1),

巨噬细胞炎症蛋白-2 (macrophage inflammatory protein-2, MIP2) 等趋化因子及基质金属蛋白酶的表达, 进一步促进中性粒细胞在炎症部位聚集, 引起局部炎症的进展及扩大。IL-17 可以通过上调共刺激分子及组织相容性复合物 (major histocompatibility complex, MHC) 促进树突状细胞的成熟。此外, IL-22 与 Th17 细胞具有协同作用, 可与促进 Th17 细胞介导的炎症反应从而造成组织细胞损伤。

2 Treg 细胞的分化来源及功能

调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 是具有免疫抑制作用的一类 CD4⁺ T 细胞^[4], 根据其来源可以分为天然调节性 T 细胞 (nTreg) 和外周调节性 T 细胞 (iTreg)。nTreg 在胸腺中发育成熟, 而 iTreg 由外周 Th0 细胞在抗原和 TGF- β 、IL-2 和视磺酸存在的微环境中表达转录因子 Foxp3, 从而诱导外周调节性 T 细胞的分化。Treg 细胞的分化受多种因素调节, IFN- γ 通过增强 Th1 型免疫应答从而抑制 Th0 细胞向 Treg 细胞的分化, 减少 Treg 细胞的数量^[5]。抑制转录因子 TGF- β 亦可抑制 Treg 细胞的分化^[6], 但 TGF- β 受抑制也可能会影响 Th17 细胞的分化^[6]。Foxp3 是 Treg 细胞发育过程中重要的转录因子, 且 Foxp3 的表达受多个信号传导通路的调控例如 IL-2R/STAT 通路、TGF- β /Smad 通路等, 通过抑制这些信号通路分子可以抑制 Treg 细胞的功能。Treg 细胞表面高表达 CD25 分子、趋化因子受体 CCR4 等, 可以通过抑制这些分子的活性从而抑制 Treg 细胞的功能。

Treg 细胞重要的生理作用是免疫调节作用, 其可以抑制自身抗原和外来微生物引起的免疫应答, 避免免疫病理损伤。Treg 细胞的缺失或功能降低都可导致自身免疫性疾病, 或使得机体对肿瘤或病原微生物等的免疫应答加强^[7,8]。Treg 细胞通过分泌抑制性细胞因子或细胞与细胞直接接触来发挥免疫抑制作用, 具体为: ①改变抗原提呈细胞的功能, Treg 细胞表面高表达细胞毒性 T 淋巴细胞抗原 4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated-antigen 4, CTIA-4) 与抗原提呈细胞的 B7 结合, 使得吡啶氮 2, 3-双加氧酶表达增加, 从而使得色氨酸减少引起蛋白质合成受阻, 进而使得 T 细胞增殖受阻。②影响效应性 T 细胞的功能, Treg 细胞组成性表达 CD25 分子, 与效应 T 细胞竞争性结合 IL-2 分子, 使得效应细胞无法得到生长信号

而不能增殖; Treg 细胞还可以表达颗粒酶 A, 依赖穿孔素杀伤很多自体来源的靶细胞。③分子依赖途径, Treg 细胞通过分泌 IL-10 等细胞因子发挥免疫抑制作用; Treg 细胞表面高表达 CD39 和 CD73 两种分子, 二者可以催化产生腺苷, 腺苷可以与效应性 T 细胞表面 A2A 受体结合从而抑制效应性 T 细胞的反应^[3, 8, 9]。

3 Th17 细胞与 Treg 细胞的免疫平衡

每一个微环境都需要一系列的调控元素, 他们不断地精细地维持着机体的动态平衡。其中 Th17 细胞与 Treg 细胞对于维持机体的免疫平衡非常关键。Th17 细胞与 Treg 细胞二者具有相反的免疫作用, Th17 细胞具有促进炎症发生发展的作用, 而调节性 T 细胞具有抑制免疫反应, 减少效应 T 细胞的作用。此外, 这两类细胞在发育途径上相互关联, Th17 细胞的转录因子 ROR γ t 受到 TGF- β 的调控, 而 TGF- β 可以促进 Treg 细胞的分化。而在调节性 T 细胞分化发育起重要作用的转录因子 Foxp3 可以抑制 ROR γ t 的功能, 但是当环境中存在 IL-6 时 Foxp3 的功能受到抑制, Th0 细胞向 Th17 方向转化^[9]。此外, CD4⁺ Treg 细胞还可以通过 STAT3 通路控制 Th17 细胞反应^[10]。因此, 推测二者之间存在平衡且可以进行调控^[11]。正常状态下, Th17 细胞与 Treg 细胞相对平衡, 维持机体的免疫内环境稳定; 若二者数量和(或)功能发生改变, 则可引起局部或全身免疫应答异常, 进而参与许多疾病, 如自身免疫性疾病、多种慢性细菌和真菌感染、肿瘤、移植排斥等的发生发展过程^[12]。

4 Th17 细胞与 Treg 细胞的免疫失衡和肌肉疾病的关系

不论是免疫介导还是基因缺陷引起的肌肉疾病, 其发病机制均与体内相关免疫系统密切关联, 且此方面的研究备受重视。尤其是, 人们发现 Th17 细胞与 Treg 细胞的分化发育相互调节可以影响到机体免疫反应的强弱, 且其介导的免疫平衡在自身免疫性疾病、肿瘤及炎症疾病中的关键作用已经被广泛证实^[13-21]。特别是在一些肌肉疾病的发生发展中, Th17 与 Treg 的免疫失衡所起到的作用也越来越被国内外研究者们所重视。如 Balandina 等^[22]研究小组利用流式细胞分析术、细胞增殖检测、胸腺组织免疫组化及实时定量 PCR 技术对比观察重症肌无力患者和健康对照者的胸腺组织 CD4⁺ CD25⁺ regulatory (Treg) 细胞的表达, 结果发现

重症肌无力患者胸腺可引起自身反应性 Treg 细胞的大量活化, 但发挥 Treg 细胞免疫抑制功能的转录因子 Foxp3 表达则严重受损, 从而促进重症肌无力的发生和发展。Pasquale 等^[23]利用实时 PCR 检测分析研究假肥大型肌营养不良患者与青少年皮肌炎的差别, 假肥大型肌营养不良患者肌肉组织有更高水平的 IL-17 和更低水平的 Foxp3 表达, 且假肥大型肌营养不良患者的肌肉组织 IL-17/Foxp3 比值要比青少年皮肌炎患者的更高, 说明假肥大型肌营养不良患者的肌肉组织的 IL-17 水平和多种促炎因子(如 MCP-1)有相关性, 提示假肥大型肌营养不良患者的临床过程及发病可能与 IL-17 有关。还有的研究把假肥大型肌营养不良模型小鼠和野生型小鼠的肌肉组织进行免疫组织化学染色, 发现 Treg 细胞并未存在于野生型小鼠的正常肌肉组织中, 但存在于假肥大型肌营养不良小鼠模型坏变的肌纤维中。这些研究发现了 Treg 细胞可抑制假肥大型肌营养不良小鼠模型的炎症和肌肉损伤, 表明通过 Treg 细胞的调节有可能治疗假肥大型肌营养不良和其它肌肉疾病, 推测 Treg 细胞将起到协同或辅助基因治疗的作用, 减少由疾病或基因治疗本身引起的炎症反应, 其还可以产生促进肌肉本身愈合和再生的因素^[24]。韩文娟^[25]在探索 Th17 细胞是否参与人类多发性肌炎(polymyositis, PM) 发病过程的研究中发现, PM 患者肌肉组织的免疫组化染色结果显示有较多的 IL-17 表达, 这也意味着在 PM 患者的肌肉组织中有 Th17 细胞的浸润, 此结果提示 Th17 细胞可能参与了多发性肌炎的炎性发病过程。总之, 以 Th17 细胞与 Treg 细胞介导的免疫平衡作为新的研究思路, 可以帮助我们更加清楚的认识肌肉病的发病机制, 并为预防和治疗多种肌肉疾病提供了新的治疗方法。

Th17 细胞与 Treg 细胞两类细胞在调节机体免疫反应中至关重要, Th17 细胞(促炎性)与 Treg 细胞(免疫耐受性)之间的平衡会影响到机体病理损伤的程度及疾病的转归。因此通过控制 Th17 细胞与 Treg 细胞分别介导的炎症反应及免疫抑制反应之间的平衡, 为研究感染性疾病, 自身免疫性疾病, 肿瘤及肌肉性疾病等多种疾病的致病机制及开发新的治疗策略提供了新的思路。

参 考 文 献

- [1] 王维维, 沈茜. Th17 细胞和 Treg 细胞的细胞因子调节

- 网络. 生命的化学, 2010, 30(2): 269-273.
- [2] Dong C. Differentiation and function of pro-inflammatory Th17 cells. *Microbes Infect*, 2009, 11(5): 584-588.
- [3] Ishii W, Matsuda M, Shimojima Y, et al. Flow cytometric analysis of lymphocyte subpopulations and TH1/TH2 balance in patients with polymyositis and dermatomyositis. *Intern Med*, 2008, 47(18): 1593-1599.
- [4] Gershon RK. A disquisition on suppressor T cells. *Transplant Rev*, 1975, 26: 170-185.
- [5] Caretto D, Katzman SD, Villarino AV, et al. Cutting edge: the Th1 response inhibits the generation of peripheral regulatory T cells. *J Immunol*, 2010, 184(1): 30-34.
- [6] Li MO, Flavell RA. TGF-beta: a master of all T cell trades. *Cell*, 2008, 134(3): 392-404.
- [7] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance. *Cell*, 2008, 133(5): 775-787.
- [8] Bordon Y. Immune tolerance: Regulatory T cells require constant reassurance. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(12): 777.
- [9] Ziegler SF, Buckner JH. FOXP3 and the regulation of Treg/Th17 differentiation. *Microbes Infect*, 2009, 11(5): 594-598.
- [10] Chaudhry A, Rudra D, Treuting P, et al. CD4⁺ regulatory T cells control TH17 responses in a Stat3-dependent manner. *Science*, 2009, 326(5955): 986-991.
- [11] Eisenstein EM, Williams CB. The T(reg)/Th17 cell balance: a new paradigm for autoimmunity. *Pediatr Res*, 2009, 65(5 Pt 2): 26R-31R.
- [12] Ma C, Ma Z, Fu Q, et al. Curcumin attenuates allergic airway inflammation by regulation of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells (Tregs)/Th17 balance in ovalbumin-sensitized mice. *Fitoterapia*, 2013, 87: 57-64.
- [13] Buckner JH. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+) CD25(+) FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(12): 849-859.
- [14] Kosmaczewska A. Low-dose interleukin-2 therapy: a driver of an imbalance between immune tolerance and autoimmunity. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(10): 18574-18592.
- [15] Szmyrka-Kaczmarek M, Kosmaczewska A, Ciszak L, et al. Peripheral blood Th17/Treg imbalance in patients with low-active systemic lupus erythematosus. *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2014, 68(0): 893-898.
- [16] 杨军, 李成荣, 王国宾, 等. Th17 细胞与 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞在儿童过敏性紫癜发病机制中的作用. *临床儿科杂志*, 2009, 27(7): 645-648.
- [17] 蔡小燕, 罗敏, 林小军, 等. Th17 和 Treg 细胞在系统性红斑狼疮患者外周血中的表达. *中华医学杂志*, 2012, 92(7): 460-463.
- [18] 赵霞. 肺癌患者 Th17/Treg 细胞及相关细胞因子检测与临床意义. 山西医科大学, 2011.
- [19] 熊苗, 陆继红, 舒慧敏, 等. 宫颈上皮内瘤变及宫颈癌患者外周血 Treg/Th17 细胞及相关细胞因子的检测与临床意义. *现代妇产科进展*, 2012, 21(6): 466-469.
- [20] 赵磊. 外周 Th17/Treg 失衡在肺腺癌及肺鳞状上皮细胞癌中的作用及相关机制探讨. 安徽医科大学, 2013.
- [21] Cao X. Regulatory T cells and immune tolerance to tumors. *Immunol Res*, 2010, 46(1-3): 79-93.
- [22] Balandina A, Lécart S, Dartevelle P, et al. Functional defect of regulatory CD4(+) CD25⁺ T cells in the thymus of patients with autoimmune myasthenia gravis. *Blood*, 2005, 105(2): 735-741.
- [23] De Pasquale L, D'Amico A, Verardo M, et al. Increased muscle expression of interleukin-17 in Duchenne muscular dystrophy. *Neurology*, 2012, 78(17): 1309-1314.
- [24] Villalta SA, Rosenthal W, Martinez L, et al. Regulatory T cells suppress muscle inflammation and injury in muscular dystrophy. *Sci Transl Med*, 2014, 6(258): 258ra142.
- [25] 韩文娟. 特发性炎性肌病中 Th17 细胞的研究. 第四军医大学, 2012.