

T 淋巴细胞在缺血性脑卒中的作用

徐姗姗¹, 简志宏² 综述 熊晓星², 祝胜美³ 审校

1. 浙江大学医学部, 浙江省杭州市 310000

2. 武汉大学人民医院, 湖北省武汉市 430000

3. 浙江大学医学院附属第一医院, 浙江省杭州市 310003

摘要: 早期研究认为, T 细胞在缺血性脑卒中导致了大脑的感染和损伤。近年研究显示, 缺血性脑卒中后有的 T 细胞亚群对脑组织有损伤性作用, 有的 T 细胞亚群有保护性作用, 如 Th 细胞或 Tc 细胞可增大脑缺血后脑梗死的体积和加重神经系统损害, 而 Tr 细胞可能会减小脑梗死体积和减弱感觉功能障碍。T 细胞相关的细胞因子如 TNF- α 、IL-2、IL-6 和 IL-8 会加重脑组织损伤, 而抗炎因子如 IL-4、IL-10 可能产生脑保护作用。所以, 应该综合考虑 T 细胞的靶向治疗, 从而达到减少 T 细胞的损伤性作用和增强 T 细胞的保护性作用的目的。

关键词: 缺血性脑卒中; T 细胞; 细胞因子; 靶向治疗

缺血性脑卒中 (cerebral ischemia stroke, CIS) 又称脑梗死 (cerebral infarction, CI), 是指由于脑组织局部血液供应障碍, 缺血、缺氧引起的局限性脑组织的缺血性坏死或脑软化。CIS 的特点是脑血流的减少或中断, 导致神经元的死亡。CIS 的临床常见类型有脑血栓形成、腔隙性梗死和脑栓塞等。它的主要症状是猝然昏倒, 不省人事, 伴发口角歪斜、语言不利而出现半身不遂。本病具有发病率高、死亡率高、致残率高、复发率高以及并发症多的特点^[1]。本病常留有后遗症, 发病年龄也趋向年轻化^[2], 是威胁人类生存和生活质量的重大疾患。T 细胞是持续炎症反应发展的核心^[3], 是促炎性细胞因子和细胞毒性物质 (如活性氧) 的来源。因此, 探讨 T 细胞在 CIS 发病中的作用, 为临床干预治疗提供理论依据是研究的工作重点之一。

1 T 淋巴细胞分类及其特性

T 淋巴细胞 (简称 T 细胞) 即胸腺依赖性淋巴细胞 (thymus-dependent lymphocyte)。来自骨髓的淋巴样干细胞, 在胸腺内分化成熟, 经血流到达外周免疫器官, 发挥细胞免疫和体液免疫的调节作用。T 细胞在外周血中约占淋巴细胞总数的 65%~75%, 在胸导管内高达 95% 以上。T 细胞是高度异质性的细胞群体, 根据其表面标志及功能特点, 可分为不同亚群。

1.1 一般分类

根据 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 双肽链

的构成不同, 可分为 $\alpha\beta$ T 细胞和 $\gamma\delta$ T 细胞; 根据 $\alpha\beta$ T 细胞功能特点又可分为辅助性 T 细胞 (help T cell, Th)、细胞毒 T 细胞 (cytotoxic T cell, Tc) 等。

1.2 根据 T 细胞产生免疫效应的功能分类

T 细胞根据产生免疫效应的功能可分为 Th 细胞、Tc 细胞、调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Tr) 等。

1.2.1 Th 细胞 成熟的 CD4⁺ T 细胞识别抗原时受自身主要组织相容复合物 (major histocompatibility complex, MHC) II 类分子的限制, 活化后分化的效应细胞主要为 Th 细胞。初始的 CD4⁺ T 细胞接受抗原刺激后首先分化为 Th0 细胞, 在抗原性质、局部微环境中的细胞因子等因素的作用下, Th0 细胞继续分化为 Th1 细胞、Th2 细胞、Th3 细胞、Th17 细胞。这四个亚群分泌的细胞因子不同^[4]。Th1 细胞主要分泌促炎因子白介素-2 (interleukin, IL)、干扰素- γ (interferon, INF)、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 等; Th2 细胞主要分泌抗炎因子如 IL-4、IL-10; Th3 细胞主要通过分泌的 TGF- β 1, 发挥免疫抑制作用; Th17 细胞是一类新的 Th 细胞亚群, 以分泌 IL-17 为特征, 具有很强的促炎症作用^[5]。

1.2.2 Tc 细胞 CD8⁺ T 细胞识别抗原时受自身 MHC I 类分子的限制, 活化后分化的效应细胞主要为 Tc 细胞。正如名称所暗示的, Tc 细胞可直接杀

收稿日期: 2014-10-23; 修回日期: 2015-01-21

作者简介: 徐姗姗 (1990-), 女, 在读研究生, 主要从事临床麻醉和脑保护研究。

通讯作者: 祝胜美, 麻醉科主任。E-mail: smzhu20088@gmail.com。

死细胞和细胞内的病原体。通过释放细胞毒素(穿孔素),以及各种颗粒酶或通过 Fas-FasL 途径导致细胞凋亡。Tc 细胞也可产生促炎细胞因子^[6],如 IFN- γ 和 TNF,有助于阻止病毒复制以及促进免疫系统的其他物质的活化。

1.2.3 Tr 细胞 分为天然产生的自然调节性 T 细胞(nTreg)和诱导产生的适应性调节性 T 细胞(aTreg 或 iTreg),如 Th3、Tr1,另外尚有 CD8⁺ Treg、自然杀伤 T 细胞(natural killer T cell, NK T cell)等,与自身免疫性疾病的发生关系密切,其异常表达可导致自身免疫性疾病。NK T 细胞表达 NK1.1 分子,TCR-CD3 复合物,主要表型为 CD56⁺ TCR⁺ CD3⁺。主要生物学作用是识别脂类抗原细胞,识别不受 MHC 限制。通过分泌 IFN- γ 、IL-4 促进 Th0 的分化。

2 缺血性脑卒中后 T 细胞的作用

2.1 T 细胞参与 CIS 的证据

研究显示,对缺血后的脑组织行免疫组织化学和流式细胞术检测发现,脑组织缺血后几小时至几天内,中性粒细胞在缺血区的初始快速募集是通过包括淋巴细胞在内的其他白细胞的累积产生的^[7]。另有研究显示,无论是永久性大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型还是光化学介导的脑缺血模型,缺血后第 1 天有 CD4⁺ T 浸润脑梗死区,到第 3 天梗死区 T 细胞数进一步增多,第 7 天达高峰,之后数目逐渐减少,并且 T 细胞主要聚集在脑梗死边界区的血管周围^[8]。在大鼠永久性 MCAO 后 24 h,应用流式细胞术(对不同亚群的白细胞采用不同的表面标记)进行检测,结果显示缺血区与非缺血区比较,不仅中性粒细胞的数量增加了 4 倍,T 细胞的数量也增加了 2 倍^[8]。以上证据表明,T 细胞参与了缺血性脑卒中的发展。

2.2 T 细胞在 CIS 后产生的损伤作用

有几项研究证实,在脑卒中缺血再灌注后,T 细胞缺陷的小鼠比野生型的小鼠脑梗死体积小^[9]。Hum 等^[10]研究证实,免疫缺陷的小鼠(T 细胞和 B 细胞缺乏)相比野生型的小鼠,在脑局部缺血 90 min 再灌注 22 h 后,其脑梗死体积缩小接近 40%。此外,有充分证据表明,脑卒中后,淋巴细胞缺陷的保护机制是由于缺乏 T 细胞而不是 B 细胞,在免疫缺陷的小鼠重新植入 B 细胞仍然有保护作用,把 CD5⁺ T 细胞植入免疫缺陷的小鼠保护作用消失^[9]。综上所述,现有的证据表明,T 细胞

在脑卒中缺血再灌注后的急性阶段有损伤作用。

有研究证实了 Th 细胞和 Tc 细胞在 CIS 中的作用。Yilmaz 等^[10]研究证明,无论是缺乏 Th 细胞或 Tc 细胞的小鼠都比野生型的小鼠有更小的梗死体积和更轻的神经系统的损害。Liesz 等^[11]也证实了 Th 细胞和 Tc 细胞缺乏的小鼠脑缺血后其脑梗死体积明显减少。这些证据表明,Th 细胞和 Tc 细胞加重了脑缺血后的脑损伤。

T 细胞分泌的细胞因子如 TNF- α 、IL-2、IL-6 和 IL-8 等是中枢神经系统促炎性细胞因子,其可能加重 CIS 后脑损伤。TNF- α 是一种多功能的促炎细胞因子,在脑缺血的大鼠,用选择性 TNF- α 转化酶抑制剂减少 TNF- α 的分泌,减少了脑梗死面积及神经功能缺损^[12]。IL-2 主要由活化的 CD4⁺ T 细胞分泌,多数研究均表明,脑缺血后 IL-2 表达增加可加重缺血性脑损伤^[13]。IL-6 主要由 CD4⁺ T 细胞、肥大细胞等产生。有研究证明,脑卒中的患者,在疾病早期恶化阶段,循环中 IL-6 表达增多^[14,15]; Smith 等^[16]发现循环中 IL-6 峰值水平与脑梗死体积和脑卒中后 3 个月的疾病预后有关。IL-8 是迄今为止发现的最强的细胞趋化因子,在缺血再灌注损伤的内皮细胞炎症反应过程中起趋化和激活中性粒细胞作用,在炎症的发展和转归中具有重要意义^[17]。目前,促炎因子在缺血后脑损伤中的作用及机制尚未完全明确,有待进一步研究。

2.3 T 细胞在 CIS 中可能存在保护作用

不是所有的 T 细胞亚型在脑卒中急性阶段都产生损伤作用。有研究证明, $\gamma\delta$ T 细胞和 NK T 细胞对脑卒中是无害的^[9]。Tr 细胞的作用还不是很明确,用抗 CD-25 的单克隆抗体中和小鼠的 Tr 细胞,小鼠的脑梗死体积和感觉功能障碍明显增加^[18]。但是,这种作用只在缺血再灌注后 7 d,且缺血损伤相对温和产生的脑梗死体积较小时才能被观察到。另外,有新的显著的证据表明,脑卒中后由于交感神经传递增强^[19]而使驻留在肝脏的 NK T 细胞功能减弱,NK T 细胞功能减弱有助于免疫抑制和降低脑卒中后感染的易感性^[20]。

IL-4 和 IL-10 是 T 细胞分泌的抗炎细胞因子。IL-4 主要由 CD4⁺ Th 细胞、肥大细胞等产生,受体主要存在于小胶质细胞/巨噬细胞。在体外模型实验,IL-4 可通过下调星型胶质细胞的活化和刺激神经生长因子的分泌,产生神经营养和保护作用^[21]。IL-10 主要由 Th2 细胞、巨噬细胞等产生,

IL-10 可通过有效的下调 MHCII 类细胞的表达和降低巨噬细胞的抗原呈递作用而减弱 T 细胞的促炎作用^[22]。并且,IL-10 可抑制促炎因子和趋化因子 TNF- α 、IL-2、IL-6 和 IL-8 等的分泌。

3 CIS 后 T 细胞的靶向治疗策略

目前,溶栓治疗仍然是治疗急性 CIS 的主要方法,但是有效的治疗时间窗局限在 4.5 h 以内。由于 CIS 后几小时甚至几天后,大脑内部有可能发生急性感染,而 T 细胞靶向治疗的关键是防止循环免疫细胞的活化和外渗以降低感染^[23],所以,从表面上看 T 细胞的靶向治疗是一个合理的方法。

针对 T 细胞的靶向治疗有很多,例如 TCR 拮抗剂治疗、抗细胞因子治疗等^[24]。TCR 作为短肽识别抗原结合到抗原呈递细胞(antigen presenting cell, APC)表面的 MHC 分子上,TCR 和 MHC-肽复合物相互作用导致 T 细胞的活化,TCR 拮抗剂可以阻止 T 细胞的活化,TCR 拮抗剂已经被证明在体内和体外均有效^[25]。T 细胞产生的细胞因子如 TNF- α 、IL-2、IL-6、IL-8 等参与了脑卒中的发病,但是一些特异性的抗炎因子如 IL-4、IL-10 对脑卒中是有益的^[22,26]。针对促炎因子的靶向治疗而不影响抗炎因子的作用将是治疗 CIS 的另一种重要方式。

虽然 CIS 后 T 细胞的靶向治疗可能减轻脑损伤和改善脑卒中的预后,但几个潜在的并发症和可能的局限性阻碍了 T 细胞的靶向治疗。首先,短期内,在 CIS 后由于严重的全身免疫抑制会更加削弱免疫系统,这样将增加感染的风险。药物治疗会进一步衰减免疫细胞的功能,在几小时内,免疫抑制的弊可能大于利^[27]。其次,在更长时间后(即数天到数周后),T 细胞似乎有利于促进脑细胞的再生^[28]。例如,中风 5 d 后神经细胞开始再生,任何干预这个过程的治疗措施都被认为是不恰当的。

4 小结

综上所述,T 细胞根据产生免疫效应的功能分为 Th 细胞、Tc 细胞、Tr 细胞等。根据研究显示,不同 T 细胞亚群及 T 细胞相关的细胞因子对缺血后的脑组织作用不同,有的具有损伤性作用,有的具有保护性作用。所以,应该综合考虑针对 T 细胞的临床治疗策略。

参 考 文 献

- [1] Mi D, Jia Q, Zheng H, et al. Metabolic syndrome and stroke recurrence in Chinese ischemic stroke patients—the ACROSS-China study. *PLoS One*, 2012, 7(12): e51406.
- [2] Wang WJ, Lu JJ, Wang YJ, et al. Clinical characteristics, management, and functional outcomes in Chinese patients within the first year after intracerebral hemorrhage: analysis from China National Stroke Registry. *CNS Neurosci Ther*, 2012, 18(9): 773-780.
- [3] Chen S, Wu H, Klebe D, et al. Regulatory T Cell in stroke: a new paradigm for immune regulation. *Clin Dev Immunol*, 2013, 2013: 1-9.
- [4] Schroeter M, Jander S. T-cell cytokines in injury-induced neural damage and repair. *Neuromolecular Med*, 2005, 7(3): 183-196.
- [5] Busman-Sahay KO, Walrath T, Huber S, et al. Cytokine crowdsourcing: multicellular production of TH17-associated cytokines. *J Leukoc Biol*, 2014.
- [6] Li G, Wang X, Huang LH, et al. Cytotoxic function of CD8⁺ T lymphocytes isolated from patients with acute severe cerebral infarction: an assessment of stroke-induced immunosuppression. *BMC Immunol*, 2013, 14: 1.
- [7] Stevens SL, Bao J, Hollis J, et al. The use of flow cytometry to evaluate temporal changes in inflammatory cells following focal cerebral ischemia in mice. *Brain Res*, 2002, 932(1-2): 110-119.
- [8] Campanella M, Sciorati C, Tarozzo G, et al. Flow cytometric analysis of inflammatory cells in ischemic rat brain. *Stroke*, 2002, 33(2): 586-592.
- [9] Kleinschnitz C, Schwab N, Kraft P, et al. Early detrimental T-cell effects in experimental cerebral ischemia are neither related to adaptive immunity nor thrombus formation. *Blood*, 2010, 115(18): 3835-3842.
- [10] Hum PD, Subramanian S, Parker SM, et al. T- and B-cell-deficient mice with experimental stroke have reduced lesion size and inflammation. *Journal of Cerebral Blood Flow*, 2007, 27(11): 1798-1805.
- [11] Liesz A, Zhou W, Mracsko E, et al. Inhibition of lymphocyte trafficking shields the brain against deleterious neuroinflammation after stroke. *Brain*, 2011, 134(3): 704-720.
- [12] Cui G, Wang H, Li R, et al. Polymorphism of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) gene promoter, circulating TNF- α level, and cardiovascular risk factor for ischemic stroke. *J Neuroinflamm*, 2012, 9: 235.
- [13] Kolbus D, Ljungerantz I, Andersson L, et al. Association between CD8. *J Int Med*, 2013, 274(1): 41-51.
- [14] 佟琳,李作孝. 脑卒中后抑郁患者血清白细胞介素-6 水平变化的研究. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2007, 34(6): 504-506.
- [15] Vila N, Castillo J, Davalos A, et al. Proinflammatory cytokines and early neurological worsening in ischemic stroke. *Stroke*, 2000, 31(10): 2325-2329.

- [16] Smith CJ , Emsley HC , Gavin CM , et al. Peak plasma interleukin-6 and other peripheral markers of inflammation in the first week of ischaemic stroke correlate with brain infarct volume , stroke severity and long-term outcome. BMC Neurol , 2004 , 4: 2.
- [17] Bielekova B , Komori M , Xu Q , et al. Cerebrospinal fluid IL-12p40 , CXCL13 and IL-8 as a combinatorial biomarker of active intrathecal inflammation. PLoS One , 2012 , 7 (11) : e48370.
- [18] Liesz A , Suri-Payer E , Veltkamp C , et al. Regulatory T cells are key cerebroprotective immunomodulators in acute experimental stroke. Nat Med , 2009 , 15 (2) : 192-199.
- [19] 魏兴梅 , 冀宁宁 , 仲骏. 交感神经在脑血管疾病中作用机制的研究. 国际神经病学神经外科学杂志 , 2013 , 40 (5-6) : 446-449.
- [20] Wong CHY , Jenne CN , Lee WY , et al. Functional Innervation of Hepatic iNKT Cells Is Immunosuppressive Following Stroke. Science , 2011 , 334 (6052) : 101-105.
- [21] Xiong X , Barreto GE , Xu L , et al. Increased brain injury and worsened neurological outcome in interleukin-4 knockout mice after transient focal cerebral ischemia. Stroke , 2011 , 42 (7) : 2026-2032.
- [22] Singh HV , Pandey A , Shrivastava AK , et al. Prognostic value of neuron specific enolase and IL-10 in ischemic stroke and its correlation with degree of neurological deficit. Clin Chim Acta , 2013 , 419: 136-138.
- [23] Offner H , Vandenbark AA , Hurn PD. Effect of experimental stroke on peripheral immunity: CNS ischemia induces profound immunosuppression. Neuroscience , 2009 , 158 (3) : 1098-1111.
- [24] Mackern-Oberti J , Vega F , Llanos C , et al. Targeting dendritic cell function during systemic autoimmunity to restore tolerance. Int J Mol Sci , 2014 , 15 (9) : 16381-16417.
- [25] Toda M , Totsuka M , Furukawa S , et al. Down-regulation of antigen-specific antibody production by TCR antagonist peptides in vivo. Eur J Immunol , 2000 , 30 (2) : 403-414.
- [26] Protti GG , Gagliardi RJ , Forte WCN , et al. Interleukin-10 may protect against progressing injury during the acute phase of ischemic stroke. Arq Neuro-Psiquiatr , 2013 , 71 (11) : 846-851.
- [27] Qiu C W , Sheng B , Liu J. A new therapy for the reduction of axon and neuron loss and promotion of axon and oligodendrocyte regeneration through inhibition of death receptor 6 pathway after ischemic cerebral stroke. Med Hypotheses , 2012 , 79 (6) : 853-855.
- [28] Pac-Soo CK , Mathew H , Ma D. Ischaemic conditioning strategies reduce ischaemia/reperfusion-induced organ injury. Br J Anaesth , 2015 , 114 (2) : 204-216.