

637.

- [28] Chou CY, Chou YC, Chou YJ, et al. Statin use and incident dementia: a nationwide cohort study of Taiwan [J]. *Int J Cardiol*, 2014, 173(2): 305-310.
- [29] Swiger KJ, Manalac RJ, Blumenthal RS, et al. Statins and cognition: a systematic review and meta-analysis of short- and long-term cognitive effects [J]. *Mayo Clin Proc*, 2013, 88(11): 1213-1221.
- [30] Satoh M, Takahashi Y, Tabuchi T, et al. Cellular and molecular mechanisms of statins: an update on pleiotropic effects [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2015, 129(2): 93-105.
- [31] Carlsson CM, Xu G, Wen Z, et al. Effects of atorvastatin on cerebral blood flow in middle-aged adults at risk for Alzheimer's disease: a pilot study [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2012, 9(8): 990-997.
- [32] Serrano-Pozo A, Vega GL, Lütjohann D, et al. Effects of simvastatin on cholesterol metabolism and Alzheimer disease biomarkers [J]. *Alzheimer Dis Assoc Disord*, 2010, 24(3): 220-226.
- [33] Ott BR, Daiello LA, Dahabreh IJ, et al. Do statins impair cognition? A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *J Gen Intern Med*, 2015, 30(3): 348-358.
- [34] Rojas-Fernandez C, Hudani Z, Bittner V. Statins and cognitive side effects: what cardiologists need to know [J]. *Endocrinol Metab Clin North Am*, 2016, 45(1): 101-116.

髓鞘抗原特异性 CD8⁺ T 细胞在 MS/EAE 脑组织免疫豁免中作用的研究进展

彭永¹, 甘露¹, 李淑萍¹ 综述 杨欢² 审校

1. 湖南中医药高等专科学校附属第一医院神经内科, 湖南省株洲市 412000
2. 中南大学湘雅医院神经内科, 湖南省长沙市 410008

摘要:对多发性硬化(MS)及其动物模型实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)中T细胞迁移的研究长期关注于CD4⁺T细胞。活细胞成像研究提供CD4⁺T细胞进入CNS的3种可能途径,而且发现必须连续破坏两种不同的组织屏障。但近年来发现CD8⁺T细胞在MS/EAE发病中的重要地位,同时它们的迁移,并显示其机制与CD4⁺T细胞的机制不同。因此,我们综述了MS/EAE中髓鞘抗原特异性CD8⁺T细胞的体内迁移和免疫豁免的国内外最新研究进展,以期了解它们与MS/EAE发病的精确机制。

关键词:多发性硬化;抗原特异性;CD8⁺T细胞;免疫豁免

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2018.05.022

多发性硬化(MS)是T细胞依赖性的中枢神经系统(CNS)自身免疫疾病,其动物模型是实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)。但目前MS的治疗方法都是非特异性免疫抑制,且有严重的副作用^[1]。MS/EAE的主要发病机理是自身免疫性T细胞从外周迁移CNS可以破坏生理性免疫豁免^[2],但以上研究绝大多数来自CD4⁺T细胞^[3]。在MS和EAE中发现致病性和抑制性CD8⁺T细胞同时存在^[4],近年来有国内外有少量文献报道MS

和EAE中CD8⁺T细胞迁移^[5,6],并且表明此机制与CD4⁺T细胞的机制不同。由CD8⁺和CD4⁺T细胞迁移穿透血脑屏障(BBB)的体外模型进一步证实了CD8⁺T细胞穿过血脑屏障的多级外渗分子机制是有别于CD4⁺T细胞^[7]。因此,我们综述了MS/EAE中髓鞘抗原特异性T细胞的体内迁移和免疫豁免的国内外最新研究进展,以期了解它们导致或抑制MS/EAE发生、发展的精确机制,为将来特异性治疗MS提供理论基础。

基金项目:湖南省自然科学基金(2018JJ6043);湖南省卫计委课题(B20180815);株洲市科技局课题(20160104);湖南省教育厅课题(14C0879)

收稿日期:2018-05-22;**修回日期:**2018-06-28

作者简介:彭永(1970-),男,硕士学位,副主任医师,主要从事神经免疫学特别是多发性硬化发病机制的研究。E-mail:1779342446@qq.com。

1 MS 治疗的主要问题和研究现状

MS 是一种罕见、不可预知的、慢性 CNS 脱髓鞘炎性疾病^[8]。MS 的病因尚不明确,遗传和环境被认为是主要因素^[9]。目前的研究认为,MS 的发病机制是由于免疫抑制功能的缺失,自身反应 T 细胞穿透血脑屏障(BBB),继而破坏生理免疫豁免,最终产生病理改变^[10],所以阻断抗原特异性致病性 T 细胞的功能是 MS 的最重要治疗手段。近年来,对 MS 的治疗效果有明显的改善,但治疗方法多为广泛性免疫抑制,其主要缺点有机会性感染、继发性自身免疫反应和诱发进行性多灶性白质脑病等^[10]。因此,通过分析 MS 治疗的研究现状,发现了抗原特异性 T 细胞是研究 MS 及其类似 CNS 疾病的最关键因素,重中之重。

2 MS 中髓鞘特异性 CD8⁺T 细胞的研究现状

对 MS/EAE 的抗原特异性致病性 T 细胞的研究长期关注于 CD4⁺T 细胞^[3],但 MS 的 CNS 病灶中最丰富的 T 细胞是 CD8⁺T 细胞,而且有克隆扩增。另外,研究发现,在 MS/EAE 中致病性和抑制性 CD8⁺T 细胞同时存在^[11]。我们以往研究视网膜抗原(IRBP1-20)特异性 CD8⁺T 细胞在实验性自身免疫性葡萄膜炎(EAU)发病中的作用及它的激活条件时也有类似发现,即不同激活条件下 IRBP1-20 特异性 CD8⁺T 细胞具有致病性或抑制性的双面性^[12,13]。有研究报道,体内的 CD8⁺T 细胞参与 MS 的发病机制,确诊的 MS 患者的脑脊液中有大量 CCR7—CD45 RA⁺/CD8⁺T 细胞,早已表明 CD8⁺T 细胞与复发缓解型 MS 的发生和发展有关^[14]。总之,以上研究均支持 MS/EAE 中 CD8⁺T 细胞的致病作用,然而,其参与致病的直接证据仍然缺乏。

CNS 特异性 CD8⁺T 细胞的研究显示,其在诱导疾病中的作用,并已在不同髓鞘蛋白(MBP 和 MOG)诱导的不同品系小鼠如 C3H、C57BL/6、SJL 和 NOD 小鼠中得到证实。而且上述 CD8⁺T 细胞诱导的 EAE 症状与 CD4⁺T 细胞诱导的 EAE 症状有明显不同^[15,16]。在 EAE 中,MOG 诱导 CD4 或 CD8 缺陷的 EAE 小鼠 CNS 的病灶是由 CD8⁺T 细胞造成的;同样与野生型动物相比,MOG1-125 诱导在 CD8 缺陷 DBA/1 的 EAE 小鼠中可发现脱髓鞘和 CNS 炎症的减少。与 MS 病变的高比例 CD8⁺T 细胞相反,EAE 病变中 CD4⁺T 细胞占主导,这可能与 CFA 加髓鞘抗原诱导 EAE 的方法有关,因为

此方法可能有助于 CD4⁺T 细胞主导反应和可能抑制性 CD8⁺T 细胞的产生。由此可以推测,效应性 CD8⁺T 细胞的相对缺乏是 EAE 未能治愈的原因之一,也就是说 EAE 不能有效模仿许多 MS 的病理表现,包括脑干、小脑和间脑的炎症和脱髓鞘。据此,我们大胆假设 CD8⁺T 细胞诱导的 EAE 与 CD4⁺T 细胞诱导的 EAE 是启动完全不同的激活通路,症状的不同是否模拟的不同阶段和/或不同临床类型的 MS? 因此,我们需要从全新的角度来看待 CD8⁺T 细胞在 EAE 中的作用。

综上所述,目前对髓鞘抗原特异性 CD8⁺T 细胞的研究大多停留在外周血和淋巴组织,这显然对明确 MS/EAE 发病机制是远远不够的,需要我们对上述髓鞘抗原特异性 CD8⁺T 细胞的体内迁移和对脑组织免疫豁免的影响进行深入地研究。这些是目前世界上 CNS 免疫中的热点和难点。

3 MS 和 EAE 中 CD8⁺T 细胞的迁移及影响 CNS 免疫豁免的研究现状

CNS 屏障包括 CNS 微血管中内皮细胞 BBB、血-软脑膜屏障(BLMB)和脉络丛上皮细胞的血脑脊液屏障(BCSFB)^[2]。免疫豁免是指生理条件下 BBB 和脑膜血管内皮细胞阻止了绝大多数外周免疫细胞穿透,而在炎症状态下,有更多的外周免疫细胞可以穿过这些 CNS 屏障进入 CNS 实质,这些步骤涉及选择素、趋化因子及其受体和细胞黏附分子^[2]。

导致 CNS 免疫豁免的主要因素是:①局部淋巴结转运 APC 的唯一途径是脑脊液淋巴引流。②因为 BBB 和 BCSFB,在 EAE 中炎症细胞集聚在血管周围或脑膜脑脊液引流区并没有出现临床症状。③CNS 中固有 APC 如小胶质细胞缺乏 MHC II 类和 I 类的表达,所以在非炎症条件下无法递呈抗原^[2]。

对 MS 和 EAE 中 T 细胞迁移的研究由来已久,可惜绝大多数资料来自髓鞘抗原特异性 CD4⁺T 细胞^[5,6]。这些脑炎 T 细胞穿透 CNS 屏障后两次攻击 CNS。第一波攻击时,只有少数活化的细胞通过致密的 BBB,并在 CNS 中潜伏。3~4 d 后,CNS 被数以百万计的免疫细胞和巨噬细胞在数小时内第二波攻击,这一过程与 MS 的突然发作相吻合。另外,发现在 CNS 浸润的最初阶段,90% 浸润的 CD4⁺T 细胞中是效应淋巴细胞^[5,6]。众所周知,髓鞘抗原特异性 CD4⁺T 细胞对靶细胞的杀伤能力是

间接和极其有限的。至关重要的是对具有强大杀伤能力的髓鞘特异性 $CD8^+$ T 细胞的迁移、穿透脑屏障,最后在 CNS 中浸润的研究仍然是极其缺乏的。

MS 是 CNS 的自身免疫反应,髓鞘反应性 $CD4^+$ T 细胞进入 CNS 后,与不同群体的吞噬细胞接触,包括脑膜、血管旁、脉络丛巨噬细胞和小胶质细胞,所有这些细胞都有潜力递呈抗原给 $CD4^+$ T 细胞。目前发现 $CD4^+$ T 细胞穿透 BBB 不是抗原依赖性的,并且与软脑膜吞噬细胞形成牢固的免疫突触,同时高表达促炎性细胞因子和膜激活标记物。

关于 MS 和 EAE 中 $CD8^+$ T 细胞的作用仍存在争议,且病变脑中发现的 $CD8^+$ T 细胞的确切表型以及这些 $CD8^+$ T 淋巴细胞进入靶器官的分子机制仍不完全清楚。近年来,国内外有少量文献报道 MS 和 EAE 中 $CD8^+$ T 细胞迁移^[17, 18]。Ifergan 等^[17]发现 CNS 中浸润 $CD8^+$ T 细胞的大多数都是记忆型效应细胞 ($CD62L-CCR7-granzymeBhi$),其体外(体外模型)迁移穿透 BBB 内皮细胞的能力比非效应型更强;另一方面,BBB 内皮细胞选择性地吸引记忆型效应 $CD8^+$ T 细胞、 $IFN-\gamma$ and $IL-17$ 分泌型 $CD8^+$ T 细胞;最后发现 $CD8^+$ T 细胞体外(体外模型)迁移穿透 BBB 内皮细胞是 $\alpha 4$ 整合素依赖的,而且同时体内注射 VLA-4 可以限制 CNS 中 $CD8^+$ T 细胞的浸润。Luo 等^[18]在 EAE 发病高峰时,应用 SHP-2 抑制剂 NSC-87877 可以明显减低外周 $CD8^+$ T 细胞而不是 $CD4^+$ T 细胞的数目,从而减轻 EAE 的病情;归因于 NSC-87877 使 CXCR7 高表达,但减低 JNK 的磷酸化而抑制 CXCL12 介导 $CD8^+$ T 细胞的迁移。遗憾的是以上这些资料虽然研究了 CNS 中 $CD8^+$ T 细胞的体外迁移,但并没有涉及到活体 CNS 中 $CD8^+$ T 细胞的体内迁移。

4 活体检测 MS 和 EAE 中 CNS 浸润 $CD8^+$ T 细胞的研究现状

静脉注射荧光标记的 $CD4^+$ T 细胞 2 h 后,可实时检测到 $CD4^+$ T 细胞的迁移横跨 BLMB 中并停留在大脑的脑膜空间,此过程依赖于内皮素。 $CD4^+$ T 细胞从脉络丛组织可以通过 BCSFB 达到脑脊液中,这表明控制 $CD4^+$ T 细胞进入脑脊液中的方式是通过 BCSFB 执行 CNS 免疫监视。

活细胞成像研究提供 $CD4^+$ T 细胞进入 CNS 的 3 种可能途径:①在软脑膜血管与脊髓和脑中迁移是通过在 BBB 内皮细胞上持续性表达 VCAM-1 与

活化的 $CD4^+$ Th1 细胞表面上表达活性 α 胞表面整合素相互作用来实现。②直接通过软脑膜微血管外渗进入蛛网膜下腔^[19]。③特异性表达的趋化因子受体 CCR6 穿过 BBB,在脉络丛通过 CCL20 启动 EAE,是由脉络丛上皮细胞产生,但不能通过 BBB。 $CD4^+$ T 细胞移动到软脑膜(蛛网膜下腔),在那里他们积累和触发的炎症反应。这些非常有意义的数字仍然来自于髓鞘反应性 $CD4^+$ T 细胞而不是我们关注的髓鞘反应性 $CD8^+$ T 细胞。

$CD4^+$ T 细胞进入 CNS 实质 3 种途径都有一个特点,即 $CD4^+$ T 细胞的侵入需要连续破坏两种不同的组织屏障:BBB 内皮细胞和胶质界膜。其中包括不同的分子机制,例如 $TNF-\alpha$ 的触发血管内皮细胞、软脑膜细胞和星形胶质细胞表达 MMP-2 和 MMP-9。同时,清道夫受体 CXCR7 表达于 BBB 内皮细胞导致 CXCR4⁺ T 细胞从血管间隙进入 CNS 实质,同时趋化因子 CXCL12 水平下调,这可能与免疫监视相关。

大多数静脉过继转移脑炎 T 细胞不直接穿越 CNS 微血管,而在肺积累。肺及其引流淋巴结发现 T 细胞群被重新编码它们的基因表达谱,这些新获得的迁移特性使这些 T 细胞有效地穿过 BBB。另外,脑炎 T 细胞还可以保留长期记忆细胞在肺组织中,在那里他们可以刺激获得权限进入 CNS,引起 EAE,这与 MS 的复发经常伴随呼吸道炎症一致。

虽然 $CD8^+$ T 细胞有助于 CNS 的免疫监视,但目前很少有关于 $CD8^+$ T 细胞迁移到 CNS 细胞和分子机制的报道。PSGL-1 与 P-选择素之间的相互作用有助于人类 $CD8^+$ T 细胞到迁移到软脑膜血管。最近,在 EAE 中发现 $CD8^+$ T 细胞迁移到 CNS 的分子机制,并且表明此机制与 $CD4^+$ T 细胞所使用的机制不同。由 $CD8^+$ 和 $CD4^+$ T 细胞迁移穿过血脑屏障的体外模型进一步证实了分子机制介导的 $CD8^+$ T 细胞穿过血脑屏障的多级外渗是区别于那些 $CD4^+$ T 细胞^[7],因此需要进一步研究。

5 小结

总之,髓鞘抗原特异性 $CD8^+$ T 细胞在 MS/EAE 的发生、发展和转归起到至关重要的作用。但基于 MS 病因和治疗的研究长期关注于 $CD4^+$ T 细胞,因此,我们特别介绍了 MS/EAE 中髓鞘抗原特异性 $CD8^+$ T 细胞的体内迁移和免疫豁免的国内外最新研究进展,以期了解它们导致或抑制 MS/EAE 发生、发展的精确机制,为将来特异性治疗 MS 提供

理论基础。

参 考 文 献

- [1] Compston A, Coles A. Multiple sclerosis [J]. Lancet, 2008, 372(9648): 1502-1517.
- [2] Engelhardt B, Ransohoff RM. Capture, crawl, cross: the T cell code to breach the blood-brain-barriers [J]. Trends Immunol, 2013, 33(12): 579-589.
- [3] Mallucci G, Peruzzotti-Jametti L, Bernstock JD, et al. The role of immune cells, glia and neurons in white and gray matter pathology in multiple sclerosis [J]. Prog Neurobiol, 2015, 127-128: 1-22.
- [4] Liu X, Cui Y, Han J. Estimating epidemiological data of Multiple sclerosis using hospitalized data in Shandong Province, China [J]. Orphanet J Rare Dis, 2016, 11: 73.
- [5] Kyratsous NI, Bauer IJ, Zhang G, et al. Visualizing context-dependent calcium signaling in encephalitogenic T cells in vivo by two-photon microscopy [J]. Proc Nat Acad Sci U S A, 2017, 114(31): E6381-E6389.
- [6] Wu L, Li N, Zhang M, et al. MHC-mismatched mixed chimerism augments thymic regulatory T-cell production and prevents relapse of EAE in mice [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2015, 112(52): 15994-15999.
- [7] Rudolph H, Klopstein A, Gruber I, et al. Postarrest stalling rather than crawling favors CD8⁺ over CD4⁺ T-cell migration across the blood-brain barrier under flow in vitro [J]. Eur J Immunol, 2016, 46(9): 2187-2203.
- [8] Nana A, Ruth AM, Christina B, et al. Multiple sclerosis in Canada 2011 to 2031: results of a microsimulation modeling study of epidemiological and economic impacts [J]. Health Promot Chronic Dis Prev Can, 2017, 37(2): 37-48.
- [9] Goris A, Pauwels I, Gustavsen MW, et al. Genetic variants are major determinants of CSF antibody levels in multiple sclerosis [J]. Brain, 2015, 138(3): 632-643.
- [10] Kalincik T, Brown JWL, Robertson N, et al. Treatment effectiveness of alemtuzumab compared with natalizumab, fingolimod, and interferon beta in relapsing-remitting multiple sclerosis: a cohort study [J]. Lancet Neurol, 2017, 16(4): 271-281.
- [11] Sinha SIF, Karandikar NJ. Immune regulation of multiple sclerosis by CD8⁺ T cells [J]. Immunol Res, 2014, 59: 254-265.
- [12] Peng Y, Shao H, Ke Y, et al. In Vitro Activation of CD8 Interphotoreceptor Retinoid-Binding Protein-Specific T Cells Requires not only Antigenic Stimulation but also Exogenous Growth Factors [J]. J Immunol, 2006, 176(8): 5006-5014.
- [13] Peng Y, Shao H, Ke Y, et al. Minimally Activated CD8 Autoreactive T Cells Specific for IRBP Express a High Level of Foxp3 and Are Functionally Suppressive [J]. Invest Ophthalmol Visual Sci, 2007, 48(5): 2178-2184.
- [14] Jilek S, Schluep M, Rossetti AO, et al. CSF enrichment of highly differentiated CD8⁺ T cells in early multiple sclerosis [J]. Clin Immunol, 2007, 123(1): 105-113.
- [15] Paré A, Mailhot B, Lévesque SA, et al. IL-1 β enables CNS access to CCR2^{hi} monocytes and the generation of pathogenic cells through GM-CSF released by CNS endothelial cells [J]. Proc Nat Acad Sci USA, 2018, 115(6): E1194-E1203.
- [16] Alenda R, Costa-Frossard L, Alvarez-Lafuente R, et al. Blood lymphocyte subsets identify optimal responders to IFN- β in MS [J]. J Neurol, 2018, 265(1): 24-31.
- [17] Ifergan I, Kebir H, Alvarez JI, et al. Central nervous system recruitment of effector memory CD8⁺ T lymphocytes during neuroinflammation is dependent on α 4 integrin [J]. Brain, 2011, 134(12): 3560-3577.
- [18] Luo Q, Gong FY, Liu W, et al. Blocking initial infiltration of pioneer CD8(+) T-cells into the CNS via inhibition of SHP-2 ameliorates experimental autoimmune encephalomyelitis in mice [J]. Br J Pharmacol, 2014, 171: 1706-1721.
- [19] Schlager CKH, Krueger M, Vidoli S, et al. Effector T-cell trafficking between the leptomeninges and the cerebrospinal fluid [J]. Nature, 2016, 530: 349-353.