

多发性硬化/实验性自身免疫性脑脊髓炎中树突状细胞亚群的研究进展

彭永¹, 甘露¹, 杨珊珊¹, 杨欢²

1. 湖南中医药高等专科学校附属第一医院神经内科, 湖南 株洲 412000

2. 中南大学湘雅医院神经内科, 湖南 长沙 410008

摘要: 树突状细胞(DC)与T细胞同为多发性硬化(MS)的主要责任细胞。DC与先天性和获得性免疫系统密切相关,并可促进或抑制髓鞘抗原特异性免疫反应。DC亚群是自身免疫反应结局的重要决定因素,但其组织特异性也可能与DC亚群的功能有关。因此,该文综述了近10年来的最新文献,深入了解DC亚群的表型、功能及其在多发性硬化症及其动物模型中的作用,有助于基于DC亚群设计免疫干预方案来治疗MS。

关键词: 多发性硬化;实验性自身免疫性脑脊髓炎;树突状细胞亚群;T细胞;髓鞘抗原

中图分类号:R744.5⁺1

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.2020.04.020

Research advances in dendritic cell subsets in multiple sclerosis/experimental autoimmune encephalomyelitis

PENG Yong¹, GAN Lu¹, YANG Shan-Shan¹, YANG Huan². 1. Department of Neurology, Affiliated First Hospital of Hunan Traditional Chinese Medical College, Zhuzhou 412000, Hunan, China; 2. Department of Neurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan, China

Corresponding author: PENG Yong, Email: 1779342446@qq.com

Abstract: Dendritic cells (DCs) and T cells are mainly responsible for multiple sclerosis (MS). DCs are closely associated with innate and acquired immune systems and may promote or inhibit the specific immune response to myelin antigen. DC subsets are an important factor for the outcome of autoimmune response, and its tissue specificity may also be associated with the function of DC subsets. Therefore, this article reviews the latest research advances in the past 10 years, so as to understand the phenotype and function of DC subsets and their role in MS and related animal models and help to design immune intervention regimens for the treatment of MS based on DC subsets.

Key words: multiple sclerosis; experimental autoimmune encephalomyelitis; dendritic cell subset; T cell; myelin antigen

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一种中枢神经系统(central nervous system, CNS)自身免疫性疾病。MS的启动必须依赖外周自身反应T细胞先在外周被抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APC)和相关髓鞘抗原激活,迁徙到CNS中与CNS的APC和相关髓鞘抗原再激活^[1]。APC主要分为专职APC如B细胞、巨噬细胞和树突状细胞(dendritic cell, DC)以及非专职APC如星形胶质细胞、小胶质细胞和内皮细胞^[2]。无论在外周还是CNS,DC被认为是最强大的专职APC,它在先天性免疫和获得性免疫

中均起着非常重要的作用^[3]。我们特综述近年来的最新相关文献,将着重研究DC在MS及其实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)中的作用,包括在CNS自身免疫中DC亚群的起始、发展和消退^[4]。

1 DC的主要亚群

一般根据所表达的转录因子和所依赖的DC生长因子flt3配体,DC分为常规DC(conventional DC, cDC)和浆细胞样DC(plasmacytoid DC, pDC)^[5]。cDC是最有效的APC。cDC通常分为两类,cDC1

基金项目:湖南省中医药管理局重点课题(201915);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)

收稿日期:2020-04-15;**修回日期:**2020-06-27

作者简介:彭永,男,硕士,副主任医师,主要从事神经系统自身免疫疾病特别是多发性硬化发病机制的研究。Email:1779342446@qq.com。

和 cDC2。cDC1 主要诱导 (T helper cells, Th) Th0 细胞向 Th1 细胞分化,而 cDC2 则诱导 Th0 细胞向 Th2 和 Th17 细胞分化^[6-7]。pDC 主要分泌 I 型干扰素 (interferon, IFN)^[8-9]。DC 亚群的特异性定向分化是了解 DC 是否能够激活 T 细胞、设计有效的疫苗佐剂和和健康或疾病状态下的 DC 不同功能等问题的关键所在^[5]。

1.1 cDC1

小鼠 cDC1 是指驻留在淋巴组织中的 CD8⁺ DC, 约占脾脏中 DC 的 20%, 其特异性标记见表 1^[5]。小鼠 cDC1 可以直接递呈抗原,也可在 MHC I 类分子上递呈外源型溶解性细胞相关抗原时,并具有较高的特异性^[6]。耐受型胸腺或脾脏 cDC1 均可通过交叉抗原递呈表现为中枢或周围性免疫耐受^[7]。

人类 cDC1 约占人类外周血白细胞中 0.03%, 其特异性标记见表 1^[5]。人类 CD141⁺ DC 是小鼠 cDC1 的人体等效物,可通过 TLR-3 配体或病毒 (包括丙型肝炎) 激活并分泌 III 型 IFN。人类和小鼠的 cDC1 都具有交叉递呈抗原和诱导细胞毒性 T 细胞的能力。

1.2 cDC2

小鼠 cDC2 是 CD8⁻ cDC, 占脾脏 DC 的大约 80%, 其特异性标记见表 1, 分为两个亚群: (endothelial cell-selective adhesion molecule, Esam) Esamhi CD8⁻ DC 和 Esamlo CD8⁻ DC。脾脏 cDC2 专门监测胞浆内的病原体,因为它们可以稳定表达相关蛋白,见表 1;另外还分泌 I 型 IFN,特别是 IFN⁻,并攻击维

甲酸诱导的基因蛋白 (retinoic acid induced gene protein, RIG)-1 依赖型病毒^[5]。与小鼠 cDC1 比较,小鼠 cDC2 表达更多的 MHC II 类分子和更倾向于激活 CD4⁺ T 细胞。Esamhi CD8⁻ DC 促进 Th2 细胞分化,而 Esamlo CD8⁻ DC 启动 Th1 免疫应答更有效^[8]。

人类 cDC2 约占外周血单核细胞的 1%, 其表型、相关因子和 (pattern recognition receptor, PRR) PRR 配体^[9] 详见表 1。人类 CD11C⁺ DC 是小鼠 cDC2 的人体等效物。人类 cDC2 可以递呈可溶性抗原给人类 cDC1,可激活同种异体 CD4⁺ T 细胞和诱导其分化为 Th1 和 Th2 细胞。

1.3 pDC

根据其 CD4 的表达,小鼠 pDC 可分为 2 个亚群: CD4⁻ pDC 和 CD4⁺ pDC, 其表型、相关因子和 PRR 配体详见表 1。当病毒感染时,两个亚群都强烈激活并分泌细胞因子。与小鼠 pDC 不同,人类 pDC 在不同的环境均可以强烈诱导 T 细胞活化,但有争议。小鼠 pDC 是抗病毒的利器,对许多病毒感染有防御作用。激活后的 pDC 上调 (major histocompatibility complex, MHC) MHCII 型分子和协同刺激分子的表达,如 CD80、CD86 和 CD40,以及快速生产大量 I 型和 III 型 IFN。虽然小鼠 pDC 在经典抗原递呈给 T 细胞的能力较差,但可以介导周围耐受性。

根据其 CD2 的表达,人类 pDC 可分为 2 个亚群: CD2^{hi}pDC, CD2^{lo}pDC, 其表型、相关因子和 PRR 配体详见表 1。

表 1 DC 亚群表型、相关因子和 PRR 配体

DC 亚群	表型	细胞、趋化因子	PRR 表达
小鼠 cDC1	CD11c ^{hi} 、CD45R ⁻ 、MHCII ⁺ 、CD8 ⁺ 、DEC205 ⁺ 、CD11b ^{lo} 、Sirp ^{lo} 、CLEC9A ⁺ (dngr1)、CavengerR (CD36) ⁺ 、CD24 ⁺ 、nec2 (cadm1) ⁺ 、XCR1 ⁺ 、CD103 ⁺ 、CX3CR1 ⁻ 、F4/80 ⁻ 、sirp ⁻ 、CCR7 ⁺ 、CD117 ⁻	TGF ⁻ 、IL-12p70、IFN ⁻ 、趋化因子	TLR 2、3、4、9、11、12、13、STING
人类 cDC1	HLADR ⁺ 、CD11c ⁺ 、CD123 ⁻ 、CD11b ⁻ 、Sirp (CD172) ⁻ 、CD141 ⁺ 、Clec9A ⁺ 、CCR7 ⁺ 、CD117 ⁻ 、NECL2 (CADM1) ⁺ 、XCR1 ⁺	IL-12、IFN ⁻	TLR 1、3、6、8、10、STING
小鼠 cDC2	CD11c ^{hi} 、CD45R ^{lo} 、MHCII ⁺ 、CD8 ⁻ 、CD11b ⁺ 、Sirp ⁺ 、CD4 ⁺ 、Clec4a4 ⁺ 、CX3CR1 ^{hi} 、Clec12A ^{-/lo} 、Esam ^{hi} 、Esam ^{lo} 、	TGF ⁻ 、IL-1、IL-12、IL-23、IFN ⁻ 、趋化因子	除 TLR3 的所有 TLR、RLR、NLR、STING
人类 cDC2	HLADR ⁺ 、CD11c ^{hi} 、CD123 ⁻ 、Sirpa ⁺ 、CD1c ⁺ 、Clec9A ⁻ 、langerin (CD207)、CD103	TNF ⁻ 、IL-6、IL-10、IL-12p70、IL-18、sol CD25、IL-23、IL23	TLR2、3、7、8、RLR、NLR、STING
小鼠 pDC	CD11c ^{int} 、CD45RA ^{hi} 、CD45R ^{hi} 、CD317 ⁺ 、MHCII ^{lo} 、CD172 ⁺ 、CD11b ⁻ 、Ly6C ^{hi} 、Ly49Q ^{hi} 、Siglec-H ^{hi} 、	IDO、IFN ⁻ 、IFN ⁻	TLR7、9、12、RLR、STING
人类 pDC	CD2 ⁺ 、CD56 ⁺ 、CD123 ⁺ 、CD303 ⁺ 、CD304 ⁺ 、CD45RA ⁺	IDO、IFN ⁻ 、IFN ⁻ 、IL-12p40	TLR7、9、RLR、STING

2 DC 与 MS/EAE

DC 在 CNS 炎症过程中起重要的作用,但其确切作用仍存在争议。一直以来都认为 DC 促进 CNS 的自身免疫反应并能够诱导和增强 EAE。另一方面,已经证明“半成熟”DC 可以通过诱导 T 细胞分泌 IL-10 来阻止 EAE 的发展,而且某些成熟的 DC 亚群也显示 EAE 的调节功能。

2.1 CNS 中的 DC

经典的理论是因为血脑屏障存在和脑内淋巴管缺失产生的“免疫豁免”,从而假定 CNS 中没有 DC。但后来的研究表明,尽管存在真正的屏障,但隔离不是绝对的;随后在硬脑膜、软脑膜、血管丛和脑脊液中发现了 DC (表 2)^[3]。DC 在脑膜、血管丛和脑脊液中的生理作用是吸收进入脑脊液的抗原,然后迁移到局部淋巴结,以激活抗原特异性表达^[3]。

表 2 CNS 中的 DC

DC 亚群	定位	表型	细胞、趋化因子
pDC	脑膜、脑实质	Flt3L	未提及
cDC1	脑膜、脉络膜血管丛	DNGR-1 (Clec9a), Irf8 + Batf3 + CD103 CD8α Flt3 DEC-205	未提及
cDC2	脑膜、脉络膜血管丛、血管旁间隙	CD11b + Sirpα + CD11c MHCIIhigh CD103 + CD64	未提及

2.2 DC 与 MS/EAE 发病的关系

纯真或记忆 T 细胞在 TGF-β、IL-6、IL-1β,特别是 IL-23 的辅助下形成 Th17 细胞。大量数据支持了 IL-23 在 EAE 和 MS 中的致病作用,而 DC 是 IL-23 的主要提供者。据报道,DC 分泌的 IL-23 在 MS 患者中增加,也可以诱导并维持 EAE 中的 CNS 炎症,而 IL-23 敲除小鼠对 EAE 完全不敏感。另外,DC 分泌的 IL-23 可通过 Th17 依赖途径诱导免疫反应的发展,同时 Th17 细胞能够分泌 GM-CSF,这样反过来刺激 DC 的生长,并且在 EAE 的发病机制中起重要作用。在 EAE 中, cDC 可激活纯真 CD4⁺ T 细胞,后者在周围淋巴结和 CNS 中可以分化为 Th1 和 Th17 细胞。cDC 数量的增加可导致炎症加剧,但是 pDC 则可诱导 Treg 细胞的发育,在 EAE 中具有抗炎作用,从而表明 pDC 数量减少伴随着 EAE 的 CNS 炎症增加和临床症状恶化,是因为降低了 Th1 和 Th17 在 EAE 中免疫反应的强度。

MS 的 CSF 中 cDC 和 pDC 的数目明显高于非炎症性患者。缓解期和继发进展型 MS 患者 cDC 上表达的 CD40、CD80、CD83、CD86、IL-2 和 TNF-α 均升高,提示表明这些指标具有诊断和预后价值。MS 患者中 pDC2 占优势,同时促炎细胞因子也增加(尤其是 IL-23)。在 EAE 和 MS 中,DC 可能同时具有促炎性和抗炎功能,与病程类型、疾病的阶段以及 DC 的类型有关^[10]。

aEAE 是 CNS 抗原与完全弗氏佐剂(CFA)充分乳化后皮下注射到动物而形成的,真皮的 DC 吸收抗原并递呈给 T 细胞。DC 是诱导 T 细胞反应最有效的 APC,DC 介导的自身抗原表达足以在纯真小

鼠中诱发 EAE;有证据证明 langerin⁺ CD103⁺ DC 可吸收皮下沉积的抗原并将其转移到皮肤引流淋巴结^[11]。但哪些 DC 亚群负责启动和指导局部淋巴结中的致脑炎性 T 细胞尚不明确,最近发现 BATF3 缺陷的小鼠,即该小鼠缺乏 CD103⁺ cDC1,容易被 MOG₃₅₋₅₅ 和 CFA 诱导形成 EAE。

DC 的中枢耐受作用已经形成共识,但清除 CD11c⁺ DC 后仍能诱导 EAE,提示外周 DC 存在外周免疫耐受,可能还有其他 DC 亚群负责此项功能。抗体清除 pDC 导致 Th17 细胞生成减少并可以改善 EAE 小鼠的病程和发病率,提示在这一阶段 pDC 具有促炎作用。另外,永久清除 MHCII 类分子,使 pDC 无法递呈抗原,导致(regulatory T cells, Treg) Treg 功能下降并加重病情。另外, pDC 可以抑制自身免疫 T 细胞的反应程度,但 pDC 在启动阶段的功能尚不清楚。耐受性树突状细胞究竟是因为它们有自己的谱系或者只是不成熟状态的 DC,包括 pDC 和 cDC,目前尚有争论。最近研究发现,耐受性 DC 可以表达 IL-27^[4]。

2.3 DC 与 MS/EAE 治疗的关系

目前已开发出 MS 专用 DC 疫苗,为不成熟 DC,可以使自身激活的 T 细胞失活并刺激 Treg 细胞的发育^[13];同时动物实验证实,使用 DC 可以抑制 EAE。但使用这些疫苗后可能的风险限制了他们在 MS 患者的研究和和使用^[14]。目前 MS 的病因治疗基于改善 MS 自然病程的疾病修饰药物的一线药物是 IFN-β 和醋酸格拉默。IFN-β 治疗可以导致 MS 患者的 cDC 数量减少;并增加 pDC 的数量和其 CD123 的表达。体外实验结果表明,IFN-β 能

够抑制促炎细胞因子 IL-12 和 IL-23 的分泌,从而阻断 Th-17 细胞的分化并增加共刺激分子 B7Ha 的表达,从而抑制 CD4⁺ T 细胞的激活。体外研究证明醋酸格拉默抑制了细胞因子 IL-12、TNF- α 和 IL-8 的分泌,提示 DC 可能是醋酸格拉默的主要靶细胞。另外醋酸格拉默对 EAE 小鼠的治疗导致了 DC 从促炎性表型向抗炎性表型的转变。二线 MS-DMD 药物如芬戈列德、那他珠单抗、富马酸二甲酯、拉奎尼莫、利妥昔单抗和达利珠单抗均对 DC 有不同程度的影响。

3 小结与展望

目前对 DC 亚群的研究已经取得了飞速的进展,现在的挑战是了解这些 DC 亚群的不同功能,以及它们是如何导致疾病或如何用于免疫治疗^[14]。同时,已显示 cDC 和 pDC 亚群在外周具有免疫耐受的功能,但其具体机制尚不清楚。因为 DC 免疫耐受的途径被默认是缺乏 PRR 激活所致,从而导致协调刺激分子的非最优化激活且缺乏第三类信号。这是一个主动过程,还需要其他非 PRR 信号的参与? 另外,研究不同 DC 亚群在 EAE 和 MS 中的作用,开发 DC 疫苗以及现有药物对 MS 中 DC 的作用仍是一个重要的问题,需要我们去探究。除了 CNS 中的 DC 外,MS 中的微生物群状态也很重要,从而对 MS 中肠道 DC 的研究显得特别重要。对 DC 的进一步研究可能有助于对 DC 介导的免疫反应进行靶向治疗^[10]。

参 考 文 献

- [1] 彭永,甘露,李淑萍,等. 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[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2018, 45(5): 532-535.
- [2] Waisman A, Johann L. Antigen-presenting cell diversity for T cell reactivation in central nervous system autoimmunity[J]. J Mol Med, 2018, 96(12): 1279-1292.
- [3] 彭永,甘露,陈之兴,等. 抗原递呈细胞在中枢神经系统对髓鞘特异性 T 细胞再激活的影响[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2019, 46(3): 312-315.
- [4] Sie C, Korn T. Dendritic cells in central nervous system autoimmunity[J]. Seminars Immunopathol, 2017, 39(2): 99-111.
- [5] Macri C, Pang ES, Patton T, et al. Dendritic cell subsets[J]. Semin Cell Dev Bio, 2018, 84: 11-21.
- [6] Cruz FM, Colbert JD, Merino E, et al. The Biology and Underlying Mechanisms of Cross-Presentation of Exogenous Antigens on MHC-I Molecules[J]. Ann Rev Immunol, 2017, 35(1): 149-176.
- [7] Shiokawa A, Kotaki R, Takano T, et al. Mesenteric lymph node CD11b(-) CD103(+) PD-L1(High) dendritic cells highly induce regulatory T cells[J]. Immunol, 2017, 152(1): 52.
- [8] Sichien D, Lambrecht BN, Guillems M, et al. Development of conventional dendritic cells: from common bone marrow progenitors to multiple subsets in peripheral tissues[J]. Muc Immunol, 2017, 10: 831.
- [9] Panda S, Kolbeck P, Sanjuan MA. Plasmacytoid dendritic cells in autoimmunity[J]. Curr Opin Immunol, 2017, 44: 20-25.
- [10] Yin X, Yu H, Jin X, et al. Human blood CD1c dendritic cells encompass CD5 and CD5 subsets that differ significantly in phenotype, gene expression and functions[J]. J Immunol (Baltimore), 2017, 198(4): 1553-1564.
- [11] Melnikov MV, Paschenkov MV, Boyko AN. Dendritic cells in multiple sclerosis[J]. Zh Nevrol Psikiatr Im S S Korsakova, 2017, 117(2 Vyp 2): 22-30.
- [12] Seebacher B, Kuisma R, Glynn A, et al. Exploring cued and non-cued motor imagery interventions in people with multiple sclerosis: a randomised feasibility trial and reliability study[J]. Arch Physioth, 2018, 8: 6.
- [13] Noubade R, Majri-Morrison S, Tarbell KV. Beyond cDC1: Emerging Roles of DC Crosstalk in Cancer Immunity[J]. Front Immunol, 2019, 10: 1014.
- [14] Audiger C, Rahman MJ, Yun TJ, et al. The importance of dendritic cells in maintaining immune tolerance[J]. J Immunol, 2017, 198(6): 2223-2231.