

• 综 述 •

Th17 细胞的研究进展*

季 荔¹综述,王 芳^{2△}审校

(南京医科大学:1. 第一临床医学院医学检验系;2. 第一附属医院医学检验科 210029)

关键词:CD4 阳性 T 淋巴细胞; 白细胞介素 17; Th17 细胞; 临床疾病**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2011.16.028**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2011)16-1845-03

免疫是人体的一种生理功能,人体依靠这种功能识别“自己”和“非己”成分,从而破坏和排斥进入人体的抗原物质、人体本身所产生的损伤细胞、肿瘤细胞等,以维持人体的健康。人体的免疫反应可分为非特异性和特异性免疫,后者主要由 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞参与。CD4⁺ T 细胞作为效应 T 细胞的重要成分,参与免疫应答的各个阶段,并在免疫调节中发挥关键作用。根据细胞因子分泌类型和生物功能特征,CD4⁺ T 细胞分为辅助性 T 细胞 1 型(T help cell 1, Th1)、辅助性 T 细胞 2 型(T help cell 2, Th2)和调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)。近来研究发现,一类特异性高效分泌白细胞介素 17(interleukin 17, IL-17)的 Th 细胞在其分化、生物学作用等方面都不同于 Th1 和 Th2,被命名为辅助性 T 细胞 17(T help cell 17, Th17)^[1]。本文就 Th17 的发现、生物学功能及其在相关疾病中的作用和临床价值作一综述。

1 Th17 细胞的发现与命名

Th17 细胞的发现源于对实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalitis, EAE)^[2]以及胶原诱导的关节炎(collagen induced arthritis, CIA)^[3]的研究。传统上认为,上述两种自身免疫病是由 Th1 细胞介导的,然而研究发现,清除或中和 Th1 型细胞因子干扰素 γ (IFN- γ)或 IL-12 的功能,并不能预防或减轻疾病的进程,而清除 IL-23 的功能则延缓了疾病的进程。随后的研究证实,IL-23 的缺失降低了体内 IL-17⁺ T 细胞的比例,而不影响 IL-17⁺ T 细胞的含量。因此,IL-23 与 IL-17⁺ T 细胞及自身免疫病进程之间的正相关关系得到确认。进一步研究发现,缺失 IL-17⁺ T 细胞可以使 EAE 等自身免疫病的发病受到抑制,认识到是 IL-17⁺ T 细胞而不是经典的 Th1 细胞在此环境中诱导自身免疫病。

然而在 2000 年发现的一种新型细胞因子链——IL-6 家族同源蛋白质——P19,这种新型细胞因子不同于 IL-12P40,并被命名为 IL-23。通过比较人为去除 IL-12P35 的小鼠和 IL-23P19 缺陷小鼠,Cua 等^[2]发现 IL-23 对减轻 EAE 症状有重要意义。Langrish 等^[4]经过研究也发现,清除或中和 Th1 型细胞因子 IFN- γ 或 IL-12 的功能,不但不能预防或减轻此类疾病的进程,反而会使其发展为更加严重的疾病。由此,人们发现了能够分泌 IL-17 及其他细胞因子的 T 细胞并正式命名为 Th17 细胞^[5-6]。

2 Th17 细胞的生物学特征与分化机制

初始 CD4⁺ T 细胞接受抗原刺激后,在不同的抗原、局部环境中的激素及细胞因子等共同作用下,可分化成不同亚型的 T 细胞,执行不同的功能。其中细胞因子的种类和细胞因子之间的平衡对 Th 细胞的分化具有重要的调节作用。初始 CD4⁺

T 细胞在 IL-12 和 IFN- γ 的诱导下经 STAT1 信号途径启动,通过上调转录调节因子 T-bet(又名 Tbx-21)的水平,同时抑制 GATA3 的表达,分化为 Th1 细胞,分泌 IFN- γ 和 IL-12,参与细胞免疫;在抗原信号和 IL-4 的诱导下通过启动 STAT6 途径上调 GATA3 的表达,促进 Th2 细胞的分化,分泌 IL-4、IL-5 和 IL-13,参与体液免疫;在 β 转化生长因子(transforming growth factor β , TGF- β)单独诱导下分化为 Treg 细胞,分泌 TGF- β ,参与免疫调节。起初由于促进 IL-17 分泌的 IL-23 与 Th1 型细胞因子 IL-12 有相同的组成部分 P40,所以认为 IL-17 是由 Th1 细胞的一个亚型所分泌,或 Th17 细胞是 Th1 的一个分支。但后来研究发现,Th17 的分化途径与 Th1 完全不同^[6]。尽管 IL-23 是促进 IL-17 的表达、介导 Th17 细胞效应的重要细胞因子,但是 IL-23 的缺失并不影响 Th17 细胞的分化^[4,7-9]。真正对 Th17 分化有作用的是 TGF- β 和 IL-6^[4,8-9],进一步研究发现,与 IL-2 属于同一家族的细胞因子 IL-21 也可以与 TGF- β 一起诱导 Th17 的分化^[10]。

Th17 细胞能够分泌 IL-17A、IL-17F、IL-6 以及 α 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor α , TNF- α)等,其主要效应因子是 IL-17。近年来发现,IL-17 是一种 T 细胞来源的细胞因子,该家族包括 6 个配体(IL-17A~F)和 5 个受体(IL-17RA~D 和 SEF)。IL-17 与受体结合后,通过 MAP 激酶途径和核转录因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B)途径发挥其生物学作用^[11]。IL-17 可以促进 T 细胞活化及刺激上皮细胞、内皮细胞、成纤维细胞分泌多种细胞因子如 IL-6、IL-8、粒细胞-巨噬细胞刺激因子(GM-CSF)及细胞黏附分子 1(cellular adhesion molecule 1, CAM-1)^[12],有效地动员、募集及活化中性粒细胞,通过联系体内适应免疫和固有免疫,在介导细胞外病原体感染、肿瘤、移植排斥、哮喘、多发性硬化症、银屑病、类风湿关节炎等疾病的发生、发展中具有重要的意义^[1]。

3 Th17 细胞与多种疾病

目前对 Th17 细胞的了解还不是非常完整,但已有研究发现它与多种疾病都存在非常重要的关系。

Th17 细胞的标志性细胞因子 IL-17,一直被认为是促炎因子,参与人或动物多种自身免疫性疾病的发病过程,包括类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)、少年特发性关节炎(juvenile idiopathic arthritis, JIA)、哮喘、系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)以及多发性硬化症(multiple sclerosis)等,这些患者的血清及组织中均检测到了 IL-17 的高表达。以 RA 为例,早期认为 IL-1 和 TNF- α 诱导 RA 滑膜中 IL-6 和 IL-8 的分泌,IL-17 起到加强和协同的作用^[13]。然而目前的研究提示,IL-17 自身就能刺激 RA 发生。RA 患者关

* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(30901344)。△ 通讯作者, E-mail:shyw74@sina.com。

节滑液中 IL-17 的含量明显高于骨性关节炎(OA)患者。与健康组相比,RA 患者血清中 IL-17 水平也有显著的升高。研究者还在 RA 滑膜中检测到 IL-17 mRNA,其表达水平可以预示损伤的程度,在发病的短期内可作为非常理想的检测指标。结果表明,以分泌 IL-17 为主要特征的 Th17 细胞可能在 RA 发生中发挥重要作用。它增强了关节胶原破坏和重建、骨质破坏以及软骨破坏,可能在急性滑膜炎转变为慢性破坏性关节炎的过程中也起了关键作用^[14]。

Th17 细胞与肿瘤的发生存在联系。目前已在不同肿瘤患者的器官样本中发现了 IL-23P19 的过度表达,包括结肠癌、卵巢癌、肺癌、胃癌、头颈部肿瘤及黑色素瘤等。Kbyczek 等^[15]研究发现,IL-17 可促进血管内皮细胞迁移,显著上调成纤维细胞或肿瘤细胞中前血管生成因子的表达,具有促进肿瘤血管生成的作用。体内实验也发现转染 IL-17 的肿瘤较对照组血管密度明显增加。IL-17 抗体可明显抑制 CD4⁺ T 细胞的血管生成活性。上述研究提示,IL-17 有一定促进肿瘤发生的作用。但也有研究表明 IL-17 对肿瘤的发生有抑制作用。Langowski 等^[16]将造血系统肿瘤细胞、肥大细胞瘤 P815 细胞和浆细胞瘤 J558L 细胞接种给小鼠后,发现 IL-17 可以抑制肿瘤生长。

研究表明,Th17 细胞可能在 2 型糖尿病的发生、发展中起重要作用。过去已知 IFN- γ 、IL22、TNF- α 等 Th1 型细胞因子通过直接促进细胞凋亡和(或)上调选择性黏附分子的表达,破坏了胰岛 β 细胞,导致 1 型糖尿病的发生。同时 Th1 型细胞因子还可促进自身反应性 T 细胞在胰腺的浸润,从而更加强了 β 细胞的破坏。国内吴晓燕等^[17]发现 2 型糖尿病患者中也存在 Th1 细胞的异常升高和 Th1/Th2 的失衡。而杜爱民等^[18]研究发现 2 型糖尿病患者外周血中 Th17 细胞比例显著高于对照组,且在糖尿病肾病组高于正常清蛋白尿组,提示 Th17 细胞与 2 型糖尿病的发生、发展密切相关,进一步丰富了 2 型糖尿病发病的免疫学机制,补充了 Th1/Th2 平衡失调理论的不足。

此外,Th17 细胞通过分泌细胞因子(如 IL-17 等)集体动员、募集及活化中性粒细胞,诱导炎症。多项研究发现 Th17 细胞与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)有一定的关系,IBD 包括克罗恩病(crohn disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC),Kobayashi 等^[19]发现活动性和非活动性 CD 和 UC 患者结肠黏膜局部及血清中 Th17/IL-17 水平相对于健康对照组明显增高,并且活动组和非活动组之间差异也有统计学意义。CD 患者 Th17 细胞数是健康对照组的 20 倍,是非活动组的 4 倍;IBD 患者 IL-17 与非活动性患者相比也有升高。由此证明 Th17 细胞在 IBD 中发挥着重要的作用。为了阐明这一病理现象,有学者提出了第 3 种效应性免疫应答,即 IL-23/IL-17 模式通路可能在 IBD 的发病机制中处于关键地位^[20]。IL-23 是 IL-12 异二聚体细胞因子家族中的一员,除与 IL-12 一样都拥有共同的 P40 亚单元外还含有独特的 P19 亚单元。IL-23 受体由 IL-12R β 1 亚基和 IL-23 受体亚基组成,IL-23 受体仅表达于记忆和(或)激活的 T 细胞,初始 Th17 祖细胞不表达,TGF- β 和 IL-6 的功能在于诱导 Th17 细胞表达 IL-23R,从而激发 Th17 细胞对 IL-23 的应答,使 Th17 产生 IL-17、IL-6 和 TNF- α ,引起炎症细胞因子级联反应,导致结肠发生炎症。

4 展 望

自从 Th17 细胞被确定为一类新型 Th 细胞以来,已经成

为免疫学领域关注和研究的焦点。关于 Th17 细胞的分化机制、免疫功能及其与人类疾病关系的研究已取得了重大突破,为相关疾病发病机制的研究和临床诊疗方法的提高提供了新的思路和方法。尽管 Th17 细胞与 Th1 细胞不同,但其与 Th1 效应细胞的关系仍需要进一步研究,并且两者功能的异同仍是需要解决的问题。其次,IL-23 受体不能在初始 T 细胞上表达,而且已有的证据表明 IL-23 不能直接刺激初始 T 细胞分化为能分泌 IL-17 的细胞,这就需要继续研究 IL-23 诱导 Th17 分化的种属差异机制。另外,由于 Th17 细胞是一些自身免疫病重要的效应细胞,因此能否通过 Th17 细胞诱导免疫耐受也是人们越来越关注的课题。对于 Th17 在肿瘤发生中是促进还是抑制作用也存在很大争议^[21]。总之,对于 Th17 的认识还远远不够,随着对此研究的不断深入,人们还将获得更多重大的发现。

参考文献

- [1] Bettelli E, Korn T, Kuchroo VK. Th17; the third member of the effector T cell trilogy[J]. *Curr opin immunol*, 2007, 19(6): 652-657.
- [2] Cua DJ, Sherlock J, Chen Y, et al. Interleukin-23 rather than interleukin-12 is the critical cytokine for autoimmune inflammation of the brain[J]. *Nature*, 2003, 421(6924): 744-748.
- [3] Lubberts E. Th17 cytokines and arthritis[J]. *Semin Immunopathol*, 2010, 32(1): 43-53.
- [4] Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(2): 233-240.
- [5] Pedraza S, Luis Lezana J, Samarina A, et al. Clinical disease caused by Klebsiella in 2 unrelated patients with interleukin 12 receptor β 1 deficiency[J]. *Pediatrics*, 2010, 126(4): e971-976.
- [6] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1123-1132.
- [7] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells[J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 235-238.
- [8] Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, et al. Transforming growth factor-beta induces development of the T(h) 17 lineage [J]. *Nature*, 2006, 441(7090): 231-234.
- [9] Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, et al. TGF beta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells[J]. *Immunity*, 2006, 24(2): 179-189.
- [10] Korn T, Bettelli E, Gao W, et al. IL-21 initiates an alternative pathway to induce proinflammatory T(h) 17 cells [J]. *Nature*, 2007, 448(7152): 484-487.
- [11] Hata K, Andoh A, Shimada M, et al. IL-17 stimulates inflammatory responses via NF-kappaB and MAP kinase pathways in human colonic myofibroblasts[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2002, 282(6): 1035-1044.
- [12] Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, et al. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 566-573.
- [13] Rho J, Takami M, Choi Y. Osteoimmunology: interactions of the immune and skeletal systems[J]. *Mol Cells*, 2004, 17(1): 1-9.

- [14] Lubberts E. IL-17/Th17 targeting; on the road to prevent chronic destructive arthritis[J]. *Cytokine*, 2008, 41(2): 84-91.
- [15] Kbyczek I, Wei S, Szeliga W, et al. Endogenous IL-17 contributes to reduced tumor growth and metastasis[J]. *Blood*, 2009, 114(2): 357-359.
- [16] Langowski JL, Zhang X, Wu L, et al. IL-23 promotes tumor incidence and growth[J]. *Nature*, 2006, 42(7101): 461-465.
- [17] 吴晓燕, 汤旭磊, 高林. 2 型糖尿病免疫炎症的初步探讨[J]. *中国免疫学杂志*, 2007, 23(10): 944-946.
- [18] 杜爱民, 曾姣娥, 宁尚侠. 2 型糖尿病患者 Th17 细胞检测及其临床意义[J]. *临床荟萃*, 2010, 25(6): 495-497.

- [19] Kobayashi T, Okamoto S, Hisamatsu T, et al. IL-23 differentially regulates the Th1/Th17 balance in ulcerative colitis and Crohn's disease[J]. *Gut*, 2008, 57(12): 1682-1689.
- [20] Maloy KJ, Kullberg MC. IL-23 and Th17 cytokines in intestinal homeostasis[J]. *Mucosal Immunol*, 2008, 1(5): 339-349.
- [21] Ji Y, Zhang W. Th17 cells: positive or negative role in tumor[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2010, 59(7): 979-987.

(收稿日期: 2011-05-15)

• 综 述 •

人类遗传疾病中常见变异和罕见变异的研究策略*

眭维国¹, 李丽萍^{1,2}, 车文体¹, 陈洁晶¹, 欧明林¹, 汤冬娥^{1,2}, 李欢^{1,2} 综述, 戴勇^{1△} 审校

(1. 中国人民解放军第一八一医院中心实验室/全军肾移植与透析治疗中心/广西代谢性疾病研究重点实验室, 广西桂林 541002; 2. 广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004)

关键词: 遗传性疾病, 先天性; 遗传变异; 全基因组测序; 外显子测序

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2011. 16. 029

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)16-1847-04

广义遗传病可以理解为一切由遗传物质改变所致的疾病, 有单基因疾病(monogenic disease/mendelian disease)其中包括常染色体显性和隐性遗传、X 连锁显性和隐性遗传、Y 连锁和线粒体病, 以及多基因疾病(complex disease)和体细胞遗传病等^[1]。研究疾病的遗传因素是一个相对复杂、困难的问题, 因为几乎所有人类疾病的发生过程都受遗传因素以及环境因素的影响。遗传因素中基因罕见变异可能是导致疾病的内因。最近, 一些单基因疾病研究表明在罕见高风险遗传变异修饰下的常见变异与疾病发生存在密切的关系^[2], 虽然鉴别遗传疾病中罕见变异的系统还未建立, 然而参照疾病的重大风险, 已经鉴定出一些疾病如自闭症、精神发育迟滞症、癫痫症、精神分裂症等是由基因罕见的结构变异引起的^[3]。因此探究罕见变异对于了解疾病风险具有潜在的重要意义。

随着人类基因组测序技术的发展以及国际人类基因组单体型图谱(HapMap)构建完成, 使在人群中大规模全基因组范围筛检与疾病关联的序列变异成为可能。此外, 外显子测序技术应用, 不仅能高精度鉴别出常见变异或罕见变异, 而且测序成本也大大降低, 引发了新一轮探究复杂遗传疾病的热潮, 并在短短几年内已经发现并证明了大量与人类性状或复杂性疾病关联的遗传变异, 为进一步了解人类遗传疾病发生的分子机制提供了重要线索。

1 导致疾病的遗传变异类型

人类基因组变异有多种形式: 单核苷酸多态性变异、可变数串联重复序列、转座子的有/无以及结构变异。这些变异在基因组中分布普遍而且密度较大, 因此被认为是导致个体间表型差异、各种遗传性疾病及疾病易感性的重要原因^[4]。基因变异程度可根据最小等位基因频率(minor allele frequency, MAF)划分, MAF 介于 5%~50% 之间称为常见变异, MAF 介于 1%~5% 之间的为少见变异, MAF 小于 1% 的为罕见变异^[5]。

1.1 常见变异 人类基因组中常见的遗传变异类型主要有: 单核苷酸多态性变异(SNP)和拷贝数变异(copy number variations, CNVs)。

1.1.1 SNP SNP 是指在染色体基因组水平上由单个核苷酸变异引起的 DNA 序列多态性, 包括碱基的转换、颠换、插入或缺失, 其中转换的发生率高于其他几种变异, 约占 2/3。SNP 的位点极其丰富, 几乎遍及整个基因组, 占有已知多态性的 90% 以上^[6], 而常见的、可遗传的 SNP 变异在人群中的发生频率大于 1%。研究发现 SNP 在精神疾病^[7]、糖尿病、高血压、忧郁症、哮喘及自身免疫病(如先天获得性免疫缺陷病)等复杂性状疾病中都发挥了重要的作用^[8]。SNP 所处位置既有可能在基因序列内称为编码区 SNP(coding SNP, cSNP), 也有可能不在基因以外非编码序列上, 或在内含子和基因并接区, 而 cSNP 变异比较少, 其变异率仅及周围序列的 1/5。它可能改变基因的表达水平和表达产物, 改变氨基酸残基的种类, 从而使蛋白质的结构和功能发生变化, 直接导致疾病的易感性, 因此 cSNP 在遗传性疾病研究中也具有重要意义。如日本学者发现了 HER-2 基因编码区的一个 SNP 与胃癌的发生及恶性程度有关^[9]。SNP 在不同人群中的分布频率也有较大的差异, 这些差异代表了某一种族或人群间的遗传差异。因此, 研究 SNP 有助于解释个体间的表型差异, 不同群体和个体对疾病的易感性及对药物的耐受性。

1.1.2 CNVs 就复杂疾病而言, 单纯以 SNP 为基础分析可能无法有效阐明病因, 而分析 CNVs 可能更容易检测到致病的遗传变异^[10]。CNVs 是指与基因组参考序列相比, 基因组中大于或等于 1 kb 的 DNA 片段插入、缺失和(或)扩增, 及其互相组合衍生出的复杂变异。2006 年 Redon 等^[11]在 HapMap 计划的 270 名健康供者中鉴定到 1 447 个 CNV 区域(CNV region, CNVR), 它们覆盖了 12% (300 Mb) 的人类基因组, 而且基因组变异与疾病致病/易感基因位点相关, 这些结果提示

* 基金项目: 国家科技重大专项课题资助项目(2011ZX11305)。

△ 通讯作者, E-mail: daiyong22@yahoo.com.cn。