

析技术的发展, FCM 将更加广泛地应用于肿瘤细胞 DNA 含量及细胞周期分析、耐药基因分析以及免疫学、病理学、男科学、微生物学等更多的临床医学领域^[22-23]。

参考文献

[1] Ichinohasama R, DeCoteau JF, Myers J, et al. Three color flow cytometry in the diagnosis of malignant lymphoma based on the comparative cell morphology of lymphoma cells and reactive lymphocytes[J]. *Leukemia*, 1997, 11(11):1891-1903.

[2] 许文荣, 王建中. 临床血液学与检验[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2007:124.

[3] Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al. Health organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumors of haematopoietic and lymphoid tissues[M]. Lyon: IARC Press, 2001:12-13.

[4] 凌家瑜, 孙晓非, 严苏丽, 等. 112 例淋巴系统恶性肿瘤骨髓免疫表型分析[J]. *癌症*, 2007, 26(4):418-422.

[5] 许艳丽, 李庆山, 杜庆华, 等. 胞膜和胞浆分化抗原联合检测在儿童白血病免疫分型中的意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2007, 28(2):134-135.

[6] 任立群, 薛丽燕, 毕蕊, 等. 流式细胞免疫表型分析在恶性淋巴瘤诊断中的应用[J]. *中华血液学杂志*, 2007, 28(10):674-675.

[7] 于亚平. 流式细胞仪免疫分型在 B 细胞淋巴瘤诊断中的应用[J]. *现代肿瘤医学*, 2009, 17(3):579-580.

[8] Munoz L, Nomdedeu JF, Lóopez O, et al. Interleukin-3 receptor α chain (CD123) is widely expressed in hematologic malignancies[J]. *Haematologica*, 2001, 86(12):1261-1269.

[9] 王亚哲, 秦亚溱, 江滨, 等. 221 例急性早幼粒细胞白血病免疫表型特点与微小残留病变检测及基因标志的关系[J]. *中国实验血液学杂志*, 2009, 17(2):274-275.

[10] 孙海敏, 钱思轩, 吴雨洁, 等. 急性早幼粒细胞白血病 143 例免疫表型研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2009, 17(1):178-179.

[11] 许艳丽, 杜庆华, 毛平, 等. 50 例急性早幼粒细胞白血病流式免疫表型结果分析[J]. *国际检验医学杂志*, 2009, 30(12):1194-1195.

[12] Killick S, Matutes E, Powles RL, et al. Outcome of biphenotypic acute leukemia[J]. *Haematologica*, 1999, 84(8):699-706.

[13] Bene MC, Castoldi G, Knapp W, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias (EGIL)[J]. *Leukemia*, 1995, 9(10):1783-1786.

[14] Campana D, Coustan-Smith E. Detection of minimal residual disease in acute leukemia by flow cytometry[J]. *Cytometry*, 1999, 38(14):139-152.

[15] Oлару D, Campos L, Flandrin P, et al. Multiparametric analysis of normal and postchemotherapy bone marrow: implication for the detection of leukemia-associated immunophenotypes[J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2008, 74(1):17-24.

[16] Buccisano F, Maurillo L, Gattei V, et al. The kinetics of reduction of minimal residual disease impacts on duration of response and survival of patients with acute myeloid leukemia[J]. *Leukemia*, 2006, 20(10):1783-1789.

[17] Sahara N, Takeshita A, Shigeno K, et al. Chnicipathological and prognostic characteristics of CD56-negative multiple myeloma [J]. *Br J Haematol*, 2002, 11(4):882-885.

[18] Bataille R, Pellat-Deceunynck C, Robillard N, et al. CD117(c-kit) is aberrantly expressed in a subset of MGUS and multiple myeloma with unexpectedly good prognosis[J]. *Leuk Res*, 2008, 32(3):379-382.

[19] Moreaux J, Hose D, Reme T, et al. CD200 is a new prognostic factor in multiple myeloma[J]. *Blood*, 2006, 108(13):4194-4197.

[20] 郭轶先, 孙雪静, 路继莲, 等. 87 例骨髓增生异常综合征多参数流式细胞术免疫表型分析[J]. *内科危急重症杂志*, 2009, 15(5):241-244.

[21] 欧阳红梅, 张芹, 甸自金, 等. CD55、CD59 在健康者红细胞及中性粒细胞上表达的研究[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(2):109-110.

[22] 莫扬, 许小东. 流式细胞术检测体液 T 淋巴细胞亚群的临床应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(1):50-51.

[23] 朱宇芳. 流式细胞术检测人类白细胞抗原-B27 在诊断强直性脊柱炎中的价值[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(7):735-736.

(收稿日期:2011-05-20)

• 综 述 •

Th17/Treg 在肝脏疾病中的作用研究进展

黄 勇¹, 朱争艳²综述, 杜 智^{3△}审校

(1. 天津医科大学研究生院胆外科 300070; 天津市第三中心医院; 2. 人工细胞重点实验室/再生医学与疾病生物治疗工程研究中心; 3. 肝胆外科 300070)

关键词: 动态平衡; 肝; 免疫; Th17; Treg

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.16.033

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)16-1856-03

辅助性 T 细胞 17(Th17)与调节性 T 细胞(Treg)细胞有着密切而又复杂的关系,介导炎性反应的 Th17 与介导免疫耐受的 Treg 具有共同的起源,都来源于初始 T 细胞,它们表面的大部分趋化受体均相同^[1],但两者的功能和分化过程相互对抗,抑制 Th17 产生可以促进 Treg 的分化、发育。在正常情况下两者保持动态平衡,有利于机体免疫稳定状态的维持使机体

产生适当强度的免疫反应。它们之间平衡的打破可能是多种疾病发生的关键因素,本文就 Th17 及 Treg 细胞的功能及其分泌的细胞因子在肝脏疾病中的作用作一综述。

1 Th17 细胞

Th17 细胞是近年发现的一种 CD4⁺ T 细胞亚群,其分泌的细胞因子及其功能明显不同于传统的 Th1、Th2 亚群,具有

△ 通讯作者, E-mail: zhi-du@163.com.

独立的分化和调节机制,在多种自身免疫性疾病、肿瘤和感染中起重要作用。Th17 主要分泌白细胞介素(IL)-17、IL-17F 和 IL-22 等标志性细胞因子,此外,它还分泌大量 IL-21。孤独核受体 ROR γ t(retinoid orphan nuclear receptor γ t)为 Th17 所特有的转录因子^[2]。Th17 的分化、发育受多种因素调节,初始 CD4⁺ T 细胞只有在转化过长时间(TGF)- β 和 IL-6 共同作用下才能启动向 Th17 的分化,而 IL-23 只是维持已经分化的 Th17 的生长和功能,在两者同时存在的情况下,经由 STAT3 通路活化 Th17 的特异性转录因子 ROR γ t 使 CD4⁺ T 细胞向 Th17 细胞分化。其完整分化过程概括为 3 个步骤:首先,通过 TGF- β 和 IL-6 的共同作用来诱导 Th17 的起始分化;接着,新分化的 Th17 分泌 IL-21 进而促进 Th17 细胞的扩增;最后, Th17 功能的稳定和维持是通过 IL-23 来实现的^[3]。

2 Treg 细胞

Treg 于 1995 年由被证实为体内存在的一类具有免疫抑制作用的 T 淋巴细胞亚群,约占外周 CD4⁺ T 细胞的 5%~10%,它能够分泌 IL-4、IL-10 和 TGF- β 等细胞因子,与多种免疫性疾病的发病机制密切相关。Treg 具有无反应性和免疫抑制性两大功能特征,并以细胞间接触的方式起作用。FoxP3 (forkhead transcription factor 3)是 Treg 细胞的特性核转录因子^[4],在调控其分化、发育和功能上起关键作用。Treg 的分化、发育过程还受多种细胞因子的调节,TGF- β 诱导初始 T 细胞分化为 Treg,而 IL-6 可以阻断这一途径,IL-21 也具有类似的作用。Treg 除可以抑制识别肿瘤细胞的效应细胞的发育和活化外,还能调节过强的免疫反应,此作用虽有保护自身组织的功能,但是以一定致病率为代价的。

3 Th17 与 Treg 的关系

Th17 与 Treg 细胞在分化过程中有着密切联系。TGF- β 与 IL-6 是连接 Treg 和 Th17 的纽带,两者的分化均依赖于 TGF- β ,在 TGF- β 单独作用下会上调 FoxP3 的表达从而使活化的初始 CD4⁺ T 细胞分化为 Treg 同时增强其活性,并抑制 ROR α 和 ROR γ t 表达以及 Th17 细胞分化。然而在 TGF- β 和 IL-6 共同作用下,活化的初始 CD4⁺ T 细胞分化为 Th17,IL-6 在其中起着关键的调节作用。此外,Treg 不但可通过分泌 TGF- β 促进 Th17 发育,在缺乏外源性 TGF- β 并有 IL-6 存在的情况下 Treg 本身也可以分化为 Th17^[5]。两者在机体的免疫反应中起着对立统一关系,它们之间平衡的打破可能是多种疾病发生的关键因素。

4 乙型病毒性肝炎

全球范围内约有 3.5 亿人感染乙型肝炎病毒(HBV),每年约有 50~100 万人死于乙型肝炎相关性肝病^[6]。HBV 致肝细胞损伤主要来自于自身免疫系统对已感染 HBV 的肝细胞进行攻击的结果,此时 Th17 作为具有强大促炎作用的细胞发挥着重要作用。而 HBV 是致肝脏的弥漫性感染,为使免疫反应不至过度杀死肝细胞,机体内的 Treg 发挥着限制免疫过度反应的角色,此作用会导致部分 HBV 逃脱免疫细胞的杀灭而持续存在。

4.1 Th17 与乙型病毒性肝炎 Th17 已被证明参与多种疾病的发生,但是具体机制还不十分清楚。近年研究发现慢性乙型病毒性肝炎患者外周血 Th17 数量及 IL-17 表达显著上调且与丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平呈正相关,提示 Th17 与 HBV

感染后引起的肝细胞损伤有关^[7-8]。另有研究显示,HBV 携带者、慢性乙型肝炎、静止期肝硬化、活动期肝硬化患者肝组织内 IL-17 的表达依次升高,肝组织内 IL-17⁺ 细胞集中于汇管区及纤维化区,与肝纤维化程度呈正相关,并且乙型肝炎患者外周血及肝组织中 Th17 数量与疾病严重程度呈正相关,IL-17⁺ 细胞比例在 Child-Pugh C 级乙型肝炎患者比 A、B 级高得多^[9],提示 IL-17 不仅参与肝纤维化的形成^[10],还参与了肝细胞炎症损伤过程,其潜在机制可能是 IL-17 通过诱导 IL-8 招募肝脏中中性粒细胞的聚集^[9]。Th17 的作用也并非单一的通过 IL-17 实现,IL-22 是 Th17 分泌的另一种重要的细胞因子,作为促炎因子保护宿主抗细菌感染^[11]。但有趣的是,虽然在乙型肝炎患者中 IL-22 mRNA 表达是上调的,但血清 IL-22 水平在急性乙型肝炎或慢性乙型肝炎与健康志愿者中无明显差异。在对小鼠肝损伤模型研究显示,IL-22 在病毒诱导的肝脏炎症中具有重要的保护作用,其潜在机制可能是 IL-22 诱导组织修复途径来限制过度的炎症反应^[12]。IL-17 在肝脏炎症反应中的重要作用似乎是通过刺激诱导肝脏非实质细胞产生多种类型的炎症细胞因子和趋化因子,而 IL-22 似乎是促进肝细胞的存活和增殖的重要因素^[13]。

4.2 Treg 与乙型病毒性肝炎 不同于 Th17 在肝脏中的作用,Treg 可以控制肝病进程^[14],诱导机体对 HBV 的免疫耐受。病毒特异性 Treg 可能有两个不同的效应:(1)防止过度的免疫病理损伤过程发生;(2)帮助建立病毒的持续存在。近期研究表明,慢性乙型肝炎患者外周血和肝脏中 Treg 增加,并与 HBV-DNA 增加水平相关,恩替卡韦抑制 HBV 复制可导致循环中 Treg 减少和部分免疫反应的恢复^[15],这些发现都表明 Treg 参与了机体对 HBV 的反应,使 HBV 感染持续化。

5 肝癌

肝癌是常见肿瘤之一,其起病隐匿、进展快、愈后差。现有观点认为肿瘤的进展是肿瘤内各种炎症细胞相互作用的产物^[16],而由于慢性肝炎病毒感染,肝癌通常是在炎症纤维化和肝硬化广泛淋巴细胞浸润的基础上产生。因此,在肿瘤微环境免疫及炎症状态可以在很大程度上影响肝癌的生物学行为,而 Th17/Treg 对人体的免疫状态有着重要影响,所以两者与肝癌也可能有着密切关系。

5.1 Th17 与肝癌 Th17 已被发现在人类多种肿瘤中高表达,肝癌及癌旁组织内 IL-17⁺ T 细胞增多,并与微血管密度呈正相关,是肝癌的独立危险因素^[17]。在早期肝癌患者中,外周血 Th17 数量较肿瘤组织少,而在晚期患者中两者则同时升高,可能是局部诱导的 IL-17 随着新生血管生成和肿瘤转移而进入外周血^[18]。非小细胞癌(NSCLC)动物肿瘤模型的研究也表明,IL-17 可以选择性上调 NSCLC 一些血管源性因子如趋化因子配体(CXCL)1、CXCL5、CXCL6 和 CXCL8 的产生,促进肿瘤相关的新血管生成,使肿瘤体内微血管的数量和密度显著增加,更利于肿瘤的生长、浸润和转移^[19]。但另有文献报道 IL-17 缺陷的小鼠更易于发展为肺癌,而用肿瘤特异性 Th17 治疗能阻碍肿瘤的发展。Th17 引起的保护性炎症反应,最终促进 CD8⁺ 细胞的活化而发挥抗肿瘤效应^[20]。Th17 细胞似乎对肿瘤有着两种相反的潜在影响,其在肝癌进展中的作用仍须进一步研究证明。除 IL-17 外,Th17 所分泌的 IL-21 不仅促进了肿瘤微环境中 CD8⁺ T 细胞的扩增,还抑制了 Treg 在肿瘤

微环境中的聚集,从而发挥其抗肿瘤的功效^[21]。

5.2 Treg 与肝癌 Treg 能抑制 T 细胞的免疫应答,因而在维持对自身成分耐受的同时也会阻止机体对肿瘤细胞的免疫应答,从而导致了肿瘤细胞的免疫逃避。研究发现原发性肝细胞癌(HCC)患者外周血中 Treg 增多,患者的肿瘤浸润淋巴细胞中也有大量的 Treg^[22],HCC 微环境中 Treg 数量与肝癌的侵袭、进展以及预后密切相关^[23]。在其他一些恶性肿瘤如结肠癌、卵巢癌、胆囊癌、胰腺癌等中也有相同的发现,如果能设法去除或减少肿瘤患者体内 Treg 的数量或是调节其功能,降低其对各种淋巴活性细胞的免疫抑制可为抗肿瘤免疫提供新的治疗途径^[24]。此外,Wang 等^[25]研究发现 HCC 良性病变区 Treg 要比恶性区低得多,当肝癌从早期进展为晚期时 Treg 显著增加。因此,可能 HCC 肿瘤组织有诱导 Treg 的能力,并且与肿瘤的临床分期有相关性。

6 结语与展望

Th17 细胞参作为一种具有强大抗炎作用的免疫细胞参与多种炎症反应,而 Treg 细胞可对免疫应答进行精细的负调节,控制免疫应答的强度,但两者并非只是单纯相互抑制的关系,它们仅仅是机体内错综复杂免疫系统的一部分,和体内多种免疫细胞及其分泌的细胞因子共同维持着机体免疫反应的动态平衡。Treg、Th17 在多种肝脏疾病患者中有着比健康人更明显的变化,这究竟是偶然还是必然的,Treg、Th17 及两者比率在乙型肝炎及肝癌乃至乙型肝炎发展为肝癌过程中是否有着某种作用,是否可成为乙型肝炎发展为肝癌的一个监测指标,尚需要进一步的研究验证。期待进一步研究能为临床肝癌的预防和免疫治疗提供指导。

参考文献

- [1] Romagnani S. Human Th17 cells[J]. *Arthritis Res Ther*, 2008, 10:206.
- [2] Ivanov, McKenzie BS, Zhou L, et al. The orphan nuclear receptor ROR γ directs the differentiation program of proinflammatory IL-17⁺ T helper cells[J]. *Cell*, 2006, 126(6):1121-1133.
- [3] 郑钰涵,吴晓东,孙兵. Th17 细胞分化和功能的研究进展[J]. *生命科学*, 2010, 22(6):534-538.
- [4] Alatrakchi N, Koziel M. Regulatory T cells and viral liver disease[J]. *J Viral Hepat*, 2009, 16(4):223-229.
- [5] 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.
- [6] Liang TJ. Hepatitis B: the virus and disease[J]. *Hepatology*, 2009, 49(5 Suppl):13-21.
- [7] Ge J, Wang K, Meng QH, et al. Implication of Th17 and Th1 cells in patients with chronic active hepatitis B[J]. *J Clin Immunol*, 2009, 30(1):60-67.
- [8] Zhang JY, Zhang Z, Lin F, et al. Interleukin-17-producing CD4⁺ T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B[J]. *Hepatology*, 2010, 51(1):81-91.
- [9] Ye Y, Xie Y, Yu J, et al. Involvement of Th17 and Th1 effector responses in patients with hepatitis B[J]. *J Clin Immunol*, 2010, 30(4):546-555.
- [10] 秦来英,杜文军,刘葵花,等. 白细胞介素 17 的肝内表达与慢性乙型肝炎肝纤维化的相关性[J]. *中华肝脏病杂志*, 2009, 17(3):221-222.
- [11] Dambacher J, Beigel F, Zitzmann K, et al. The role of interleukin-22 in hepatitis C virus infection[J]. *Cytokine*, 2008, 41(3):209-216.
- [12] Wu W, Li J, Chen F, et al. Circulating Th17 cells frequency is associated with the disease progression in HBV infected patients[J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2010, 25(4):750-757.
- [13] Lafdil F, Miller AM, Ki SH. Th17 cells and their associated cytokines in liver diseases[J]. *Cell Mol Immunol*, 2010, 7(4):250-254.
- [14] Longhi MS, Ma y, Mieli Vergani G, et al. Aetiopathogenesis of autoimmune hepatitis[J]. *J Autoimmun*, 2010, 34(1):7-14.
- [15] Zhang JY, Song CH, Shi F, et al. Decreased ratio of Treg cells to Th17 cells correlates with HBV DNA suppression in chronic hepatitis B patients undergoing entecavir treatment[J]. *PLoS One*, 2010, 5(11):e13869.
- [16] Kuang DM, Peng C, Zhao QY, et al. Activated monocytes in peritumoral stroma of hepatocellular carcinoma promote expansion of memory T helper 17 cells[J]. *Hepatology*, 2010, 51(1):154-164.
- [17] Zhang JP, Yan J, Xu J, et al. Increased intratumoral IL-17 producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients[J]. *J Hepatol*, 2009, 50(5):980-989.
- [18] Benchetrit F, Circe A, Vires V, et al. Interleukin17 inhibits tumor cell growth by means of a T cell dependent mechanism[J]. *Blood*, 2002, 99(6):2114-2121.
- [19] Numasakim, Watanabe M, Suzuki T, et al. IL-17 enhances the net angiogenic activity and in vivo growth of human nonsmall cell lung cancer in SCID mice through promoting CXCR dependent angiogenesis[J]. *J Immunol*, 2005, 175(9):6177-6189.
- [20] Natalia MO, Pawel M, Yeonseok C, et al. Th17 cells promote cytotoxic T cell activation in tumor immunity[J]. *Immunity*, 2009, 31(5):787-798.
- [21] Kimschuize S, Kim HS, Fan Q, et al. Local IL-21 promotes the therapeutic activity of effector T cells by decreasing regulatory T cells within the tumormicroenvironment[J]. *Mol Ther*, 2009, 17(2):380-388.
- [22] Ormandy LA, Hillemann T, Wedemeyer H, et al. Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood of patients with hepatocellular carcinoma[J]. *Cancer Res*, 2005, 65(6):2457-2464.
- [23] Beyer M, Schultze JL. Regulatory T cells in cancer[J]. *Blood*, 2006, 108(3):804-811.
- [24] 甘长清,王小毅. CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞和 Foxp3 在不同病理类型乳腺癌患者外周血和组织中表达水平及其临床意义[J]. *免疫学杂志*, 2009, 25(3):322-325.
- [25] Wang F, Li Q. Increased prevalence of regulatory T cells in the tumormicroenvironment and its correlation with TNM stage of hepatocellular carcinoma[J]. *J Cancer Res Clin Oncol*, 2010, 136(11):1745-1754.