

· 综 述 ·

Treg/Th17 对上市后中药注射剂过敏反应监测的意义*

顾 敏 综述^{1,2}, 谢雁鸣 审校^{1△}, 赵玉斌^{2▲}, 郭新城², 王志飞¹, 刘 峴¹

(1. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京 100700; 2. 石家庄市中医院血液科, 河北石家庄 050000)

关键词: 辅助性 T 细胞 17; 中药注射剂; 免疫毒理

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2016.09.032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)09-1232-02

上市后中药注射剂引起的过敏反应属于 I 型超敏反应(I 型变态反应)。I 型超敏反应是上市后中药注射剂免疫毒性监测的重点内容,对 I 型超敏反应发生机制、反应过程的分析提示调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)/辅助性 T 细胞 17(Th17)是参与 I 型超敏反应的重要细胞, Treg/Th17 及 IL-17 可以作为评价中药注射剂致过敏反应的重要指标。

1 上市后中药注射剂过敏反应监测背景

上市后中药注射剂多成分复杂且有效成分尚不完全清楚,其中的动植物蛋白、鞣质等也极易引起变态反应。研究表明,与中药注射剂有关的药品不良反应(ADR)中,92%属于变态反应(AR),解决中药注射剂引起的变态反应是中药注射剂研制中的一项重要工作^[1]。目前我国在上市后中药注射剂危险性评估方面的工作与国际趋势和实际需要远不相符,亟待完善和发展。因此建立快速、灵敏的免疫毒理学安全评价的检测方法迫在眉睫,而过敏反应的监测是其中非常重要的内容。

2 上市后中药注射剂过敏反应的监测依据

变态反应是指药物及其体内代谢产物作为抗原或半抗原刺激机体而发生的非正常免疫反应。美国国立变态反应和感染性疾病研究所(NIAID)与食物过敏及急性全身过敏反应联盟(FAAN)在第 2 次专题讨论会上制定急性全身过敏反应的诊断标准。包括皮肤过敏反应、呼吸道过敏反应、消化道过敏反应等^[2]。根据这个标准可以准确地对 95%的患者作出急性全身过敏反应的诊断。临床上根据变应原进入途径分吸入性、摄入性、注入性、接触性等。上市后中药注射剂作为注入性抗原,相关的 ADR 主要是速发型。其中发生率最高的是以 I 型变态反应,临床表现包括荨麻疹、特应性皮炎、支气管哮喘等为主的急性变态反应,一般认为与遗传、免疫及对生理、药理介质反应异常有关。也涉及到部分 III 型变态反应(毛细血管变态反应性疾病如过敏性紫癜)^[3]。据统计,374 例中药注射剂 ADR 的发生时间,在用药后数秒至 60 min 之内的有 256 例,占 70%^[1]。根据 NIAID 及 FAAN 关于急性全身过敏反应的诊断标准及修改后的 Coombs 和 Gell 分类可以看出, I 型变态反应应作为上市后中药注射剂免疫毒性监测的重点内容。

3 Treg/Th17 及 IL-17 监测作为过敏反应特异性诊断的依据

经典理论认为辅助性 T 细胞 1 型(Th1)/辅助性 T 细胞 2 型(Th2) 细胞失衡是哮喘发病的关键机制^[4]。IL-4、IL-2、IFN- γ 的相互作用是维持 Th1/Th2 平衡的关键。随着对哮喘发生机制研究的不断深入及临床上激素抵抗型哮喘的出现,近

年提出了嗜酸性粒细胞性哮喘(NEA)的概念。体内外实验均显示,增强 Th1 反应并不能减轻或逆转 Th2 反应介导的哮喘气道炎症反应^[5]。提示哮喘的发病机制不能单纯用 Th1/Th2 平衡理论来解释, Th17/Treg 失衡被证明也是哮喘发生的重要机制之一。Th17 细胞是 2005 年被明确的一种新型的 T 细胞, Th17 功能群极化主要依赖 IL-23, IL-23 有增强中性粒细胞募集的作用。初始 CD4⁺ T 细胞在 TGF- β 和 IL-6 共同作用下分化为 Th17 细胞,在健康者人体外周血单个核细胞中 Th17 细胞所占比例约为 0.5%^[6]。Th17 分泌 IL-17 等 Th17 型细胞因子而介导、促进炎症反应^[7]。IL-17 最初称为 CTLA8,具有激活成纤维细胞 NF-KB 的活性,并诱导成纤维细胞分泌 IL-8 和人成纤维细胞表达细胞间黏附分子-1(ICAM-1)^[8]。Th17 主要生物活性为促进 ICAM-1 表达参与血管形成^[9]。Th17 介导中性粒细胞炎症并在 Th2 细胞参与下共同促发气道高反应性,有证据显示 Th17 参与了慢性气道重塑。

1995 年有研究者首次证实 Treg 细胞存在于人体^[10]。Treg 是一群具有免疫调节功能的 T 细胞,常见的 Treg 具有 CD4⁺CD25⁺ 表型,特异性表达 FOXP3 等,一些研究结果提示衰老和疾病状态下 Treg 数量会有所增高^[11]。CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞被证实对实验性哮喘具有保护作用。Toldi 等^[12]发现哮喘孕妇外周血 Th17 骤增而 Treg 增殖缓慢,不足以抑制 Th17 提呈抗原后导致的过亢免疫反应,从而加重了哮喘的发作。最新研究发现 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞在中重度哮喘患者中显著减少^[13]。

4 Treg/Th17 及 IL-17 的监测意义

Th1/Th2 失衡尤其是 Th2 应答增强并分泌 IL-5 等诱导嗜酸性粒细胞浸润是哮喘发病的重要因素,而有研究者者在 2002 年发现半数以上的患者这样的浸润在肺部并不明显,甚至检不出。有研究报道哮喘的气道高反应性主要依赖 Th17 应答和气道中性粒细胞浸润,而非 Th2 介导的嗜酸性粒细胞浸润。2009 版哮喘防治指南基于诱导痰炎症细胞分类提出非嗜酸性细胞哮喘,其病理表现为气道内中性粒细胞增多。有研究发现哮喘患者第 1 秒用力呼气容积(FEV1)与患者 Th17 及 IL-17 呈负相关,与 Treg、IL-10 呈正相关^[14]。Th17 水平可反映支气管哮喘疾病的活动性^[15],李建民等^[16]报道急性哮喘患者外周血 Th17 细胞表达增加,并与疾病的严重程度呈正相关。IL-17 即病毒性 T 细胞抗原 8(CTLA8),作为一种强大的招募中性粒细胞因子,可能参与了“非嗜酸性哮喘”的致病过

* 基金项目:国家科技部重大新药创制资助项目(2015X09501004-001-009)。 作者简介:顾敏,女,副主任中医师,主要从事血液及免疫疾病的临床与研究。 △ 通讯作者, E-mail: ktzu2014@163.com; ▲ 通讯作者, E-mail: drzhyubin@sina.com。

程,其在哮喘发作中的作用渐受重视。IL-17 在哮喘患者痰液、支气管灌洗液及血清中明显增多,其增高的程度与气道高反应性炎症程度相关,提示 IL-17 与哮喘的发病机制密切相关^[17]。2011 年施宇衡等^[18]发现过敏性哮喘组 Th2、IL-4、Th17、IL-17 的外周血浓度较正常组显著增高,而 CD4⁺CD25⁺Treg 在中重度哮喘患者中显著减少。有研究发现,中重度哮喘患者外周血 Th17 细胞百分率及外周血单个核细胞(PBMC)上清液中 IL-17 水平高于健康对照组和轻度哮喘患者,两者呈正相关^[19]。另有研究表明,IL-17 在哮喘发病中起双向调节作用,它在哮喘的形成过程中是必需的,但在已经建立的哮喘中起负性调节作用。许多学者提出,IL-17 主要是在以中性粒细胞浸润为主的重症哮喘和激素抵抗型哮喘中起作用。重症哮喘患者支气管黏膜上皮中性粒细胞浸润明显增加,IL-17 表达显著升高^[20]。IL-17 水平可能成为非典型 Th2 调控的变应性哮喘分级的标志物。

检测血中 IgE 水平发现 40% 西方人有特异性,但只有 7% 以哮喘形式表现出来。是什么机制导致这种特异性特异表达而很多人却不发生哮喘呢?其中一种解释是存在外周自身免疫耐受机制。近年研究发现 Treg 尤其是 CD4⁺CD25⁺Treg 能抑制 Th2 反应,维持气道的免疫耐受^[21]。CD4⁺CD25⁺Treg 下调抗原的免疫反应具有非抗原特异性,已经明确哮喘发生者体内的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞较健康人少,且功能明显受损。成人过敏性哮喘急性发作期,轻度到中度未应用激素治疗者,外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数量明显下降^[22]。当 CD4⁺CD25⁺T 细胞含量降低时,免疫功能平衡被打破,Treg 细胞抑制免疫反应的功能减弱,气道对抗原的免疫应答反应加强,机体处于严重的超敏反应状态^[23]。吸入糖皮质激素可以恢复 CD4⁺CD25⁺Treg 对肺部 Th2 细胞增殖和细胞因子分泌的抑制能力。FoxP3 在 Treg 上特异性表达,可直接反映其水平和功能活性而作为判断 Treg 细胞的金标准^[24]。

Th17 和 Treg 细胞之间的相互调控可能是机体的一个生理性调节机制,正常情况下,机体处于 Treg 细胞的适度控制下以维持自身免疫耐受^[25]。探讨 Th17 型细胞因子及 Th17/Treg 在非嗜酸性哮喘发病机制中的作用,将有力推进和完善上市后中药注射剂的过敏反应监测并有利于进一步阐明非嗜酸性哮喘特别是重症哮喘及难治性哮喘的气道炎症机制。杨志明等^[26]关于 68 例哮喘患者 Th17 和 Treg 联合检测结果提示,哮喘患者存在 Th17/Treg 失衡,通过 Treg 细胞表达的 IL-35 能有效地抑制 IL-17 依赖性过敏性哮喘。杨志明等报道通过下调转录因子 STAT3、ROR α 、ROR γ t 表达,抑制 Th17 细胞分化,可能成为哮喘治疗的一个新靶点。

参考文献

- [1] 王永炎,杜晓曦,谢雁鸣. 中药注射剂临床安全性评价技术指导[M]. 北京:人民卫生出版社,2013:11-13.
- [2] 谢雁鸣. 中医药临床评价方法研究与实践[M]. 北京:人民卫生出版社,2014:34.
- [3] 郝艾芹. 588 例变态反应疾病患者过敏原体外检测及分析[J]. 疾病监测与控制,2012,6(3):174-175.
- [4] 龚臣,邓静敏. Th17/Treg 在支气管哮喘发病机制中的作用及研究进展[J]. 中华哮喘杂志:电子版,2013,7(3):41-45.

- [5] 李鸿佳,刘粉,赵继萍,等. 非嗜酸性哮喘气道中 Th17 相关细胞因子的研究[J]. 现代免疫学,2013,33(1):30-33.
- [6] 汤美雯. Th17/Treg 细胞及相关细胞因子平衡调节的研究[J]. 河西学院学报,2015,31(2):80-83.
- [7] 王易. 免疫学导论[M]. 北京:中国中医药出版社,2013:126-127.
- [8] 金伯泉. 细胞和分子免疫学[M]. 西安:世界图书出版西安公司,1995:157.
- [9] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京:科学出版社,2000:75.
- [10] 陈建丽,徐超,李振华. 孟鲁司特联合舒利迭治疗哮喘的临床疗效及对 Th17、Treg 细胞平衡和 IL-4、IFN- γ 表达的影响[J]. 中国生化药物杂志,2015,35(5):127-129.
- [11] 康熙雄. 临床免疫学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010:450.
- [12] Toldi G, Molvarec A, Stenczer B, et al. Peripheral T(h)1/T(h)2/T(h)17/regulatory T-cell balance in asthmatic pregnancy[J]. Int Immunol, 2011, 23(11):669-677.
- [13] 张溪夏,曹志伟. Th17 细胞与 Treg 细胞比例失衡在慢性炎症性疾病中研究进展[J]. 临床与病理杂志,2014,34(5):601-605.
- [14] 刘坤,戴爱国,蒋永亮. 孟鲁司特钠对老年咳嗽变异性哮喘患者炎症因子辅助性 T 细胞 17、调节性 T 细胞的影响[J]. 社区医学杂志,2014,12(23):42-44.
- [15] 陈啸洪,李华俊,姚欢银,等. 外周血 Th17 和 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞变化与患儿支气管哮喘活动状态的相关性研究[J]. 中国全科医学,2015,18(8):969-971.
- [16] 李建民,向旭东,李金秀,等. 急性哮喘患者外周血中 Th17 细胞的变化及其意义[J]. 中南大学学报:医学版,2010,35(2):129-133.
- [17] Bullens DM, Truyen E, Coteur L, et al. IL-17 mRNA in sputum of asthmatic patients: linking T cell driven inflammation and granulocytic influx[J]. Respir Res, 2006, 7(1):135.
- [18] 施宇衡,时国朝,万欢英,等. 过敏性哮喘患者外周血 Th17 细胞及 IL-17 水平的变化[J]. 诊断学理论与实践,2010,9(5):473-476.
- [19] 安霞,叶伶,龚颖,等. 支气管哮喘患者血清中 Th17 细胞相关细胞因子的检测及意义[J]. 中国临床医学,2014,21(5):513-516.
- [20] 王学亮,周传麟,卞明菊. 金水宝胶囊对支气管哮喘患者几种免疫细胞因子的影响[J]. 中华肺部疾病杂志:电子版,2015,8(2):204-205.
- [21] 张敏,吴祖群,王凯. 调节性 T 细胞与支气管哮喘的研究进展[J]. 中华哮喘杂志:电子版,2011,10(5):371-374.
- [22] 孟珊珊,于金燕,闫冰迪,等. 过敏性哮喘患者调节性 T 细胞对 Th17 细胞和 Th9 细胞的影响[J]. 中国免疫学杂志,2015,31(1):93-96,102.
- [23] 钟妙容,杨海,杨小兰,等. 哮喘患儿诱导痰中 ECP、MMPs、黏附分子、T 细胞亚群含量检测及临床意义[J]. 海南医学院学报,2015,21(4):534-536.
- [24] Peters A, Pitcher LA, Sullivan JM, et al. Th17 cells induce ectopic lymphoid follicles in central nervous system tissue inflammation[J]. Immunity, 2011, 35(6):986-996.
- [25] 邵红伟,杨海林,梁春梅,等. 不同培养环境对 PMBC 中 Treg 和 Th17 细胞分化的影响[J]. 中国免疫学杂志,2015,31(7):874-878.
- [26] 杨志明,成俊芬. Th17 细胞及其在支气管哮喘发病中的作用[J]. 中华哮喘杂志:电子版,2012,2(1):30-34.