

imipenem minimal inhibitory concentration in clinical *Klebsiella pneumoniae* strains[J]. *Curr Microbiol*, 2009, 58(4): 366-370.

[21] 李轶, 张嵘, 周宏伟, 等. 亚胺培南耐药大肠埃希菌的耐药机制研究[J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(10): 1167-1169.

[22] Nusca A, Patti G, Marino F, et al. Prognostic role of preprocedural glucose levels on short-and long-term outcome in patients undergoing percutaneous coronary revascularization[J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2012, 80(3): 377-384.

[23] 衣美英, 刘迎春, 王鹏远, 等. 耐亚胺培南铜绿假单胞菌外膜孔蛋白与 β -内酰胺酶研究[J]. *中华医院感染学杂志*, 2007, 17(10): 1198-1200.

[24] 林冬玲, 陈茶, 曾建明. 铜绿假单胞菌耐药机制研究进展[J]. *现代检验医学杂志*, 2011, 26(3): 91-95.

[25] 翁幸璧, 糜祖煌. 泛耐药鲍曼不动杆菌 PBP1A, CarO 及 β -内酰胺酶的编码基因分析[J]. *中华临床感染病杂志*, 2012, 5(4): 215-220.

[26] 梁文, 李博, 董萌萌, 等. 铜绿假单胞菌对碳青霉烯类抗生素耐药机制研究进展[J]. *中国抗生素杂志*, 2013, 38(9): 641-646.

[27] Farra A, Islam S, Stralfors A, et al. Role of outer membrane protein OprD and penicillin-binding proteins in resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to imipenem and meropenem[J]. *Int J Antimicrob Agents*, 2008, 31(5): 427-433.

[28] Moya B, Dötsch A, Juan C, et al. Beta-lactam resistance response triggered by inactivation of a nonessential penicillin-binding protein[J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(3): e1000353.

[29] Warner DM, Yang Q, Duval V, et al. Involvement of MarR and YedS in Carbapenem resistance in a clinical isolate of *Escherichia coli* from China[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2013, 57(4): 1935-1937.

(收稿日期: 2015-07-30)

疟色素应用于拉曼光谱技术检测疟疾研究进展*

易 品¹综述, 邵超鹏¹, 顾大勇², 董瑞玲²审校

(1. 南方医科大学生物工程学院, 广东广州 510515; 2. 深圳国际旅行卫生保健中心, 广东深圳 518033)

关键词: 光谱分析, 拉曼; 疟疾; 实验室技术和方法; 疟色素; 特征峰

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 02. 035

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)02-0229-04

疟疾是一种由疟原虫感染引起的威胁生命的疾病, 据世界卫生组织发布的最新情况, 2013 年仍有共计约 1. 98 亿疟疾患者, 其中 58. 4 万人死亡。疟原虫侵入人体后早期寄生在肝细胞中, 后期主要寄生在红细胞内。疟原虫在宿主红细胞内以血红蛋白中的珠蛋白部分为营养来源, 而血红蛋白的血红素部分则被释放出来成为游离血红素, 为避免游离血红素对疟原虫自身的杀伤作用, 疟原虫将游离血红素转化成不可溶的高铁血红素结晶, 即疟色素^[1-2]。目前针对疟色素检测的研究取得许多进展, 尤其是拉曼光谱技术。拉曼光谱技术的基本原理是利用激光照射介质后会产生与入射波长不同的光谱, 从而获得分子振动的相关信息, 进而获得物质的结构信息。疟色素具有特殊的二聚体分子结构^[3], 拉曼激光照射疟色素会产生不同于血红蛋白的拉曼光谱, 即特征峰, 这为早期诊断疟疾带来希望。

1 拉曼光谱技术检测疟色素的优势

1. 1 样本处理 拉曼光谱技术所需样品量非常少, 样本无需进行染色或去除杂质等处理, 液体、固体均可, 甚至活细胞原位也能进行检测, 而且检测后对样本无影响^[4-5], 可避免常规检测手段样本处理过程中待检物的损失和待检物理化性质的改变。国内外学者将拉曼光谱技术应用于疟疾患者血清^[5]、疟疾感染红细胞裂解液等的检测, 通过分析拉曼光谱技术, 可深入了解血清中疟色素是否存在, 进而判断是否感染疟疾。此外活细胞原位拉曼光谱技术检测可以准确反应体内细胞和物质的实时信息如 Frosch 等^[6]将显微共聚焦拉曼光谱技术应用于疟原虫感染红细胞原位检测, 获得分辨率较高的疟色素在红细胞的分

布图。在疟疾的检测方面, 活细胞原位检测虽然直观高效但耗时长, 而血清检测既简便、快速又准确。此外拉曼光谱技术具有无需标记且无波坏性的特点, 对临床应用具有极重要的意义。

1. 2 检测灵敏度 目前疟原虫感染的检测方法主要分为 3 种: (1) 血涂片镜检, 血涂片镜检仍然是目前临床疟疾诊断的“金标准”, 虽然准确度高, 但其有对检测者的要求高、耗时长和灵敏度差等缺点; (2) 核酸检测, 以 PCR 为代表的分子生物学技术检测疟原虫的特异性核苷酸片段来判断是否有疟原虫感染^[7-8], 其灵敏度虽然有所提高(在疟原虫大于或等于 5 个/ μ L 时其检测阳性率可达 100%), 但对实验条件要求高且达不到快速检测的要求^[9]; (3) 抗原抗体反应, 检测疟原虫的特异抗原如 ELISA、免疫胶体金技术等^[9], 虽然具有操作简便、快速等特点, 但灵敏度不高(阳性率为 77%~98%, 且是在疟原虫大于 100 个/ μ L 条件下)^[10]。总之, 目前已有的检测手段存在灵敏度不够及实验条件要求高等缺点, 而临床亟须一种灵敏度高又快速的检测手段。近年来随着拉曼光谱技术不断发展, 市场上出现如显微共聚焦拉曼、激光共振拉曼、表面增强拉曼、便携式拉曼仪等新技术, 这些新技术大大提高了拉曼光谱技术检测的灵敏度。显微共聚焦拉曼光谱仪测量样品可以小到 1 μ mol 的量, 激光共振拉曼产生的信号强度可达到正常拉曼谱带的 $10^4 \sim 10^6$ 倍, 表面增强拉曼产生的拉曼信号较普通拉曼强 $10^4 \sim 10^7$ 倍。便携式拉曼仪的应用使疟疾检测仪器小型化, 便于开展疟疾的筛查。有文献报道, 将疟原虫的检测浓度下限

* 基金项目: 国家质检总局科研项目(2014IK054)。 作者简介: 易品, 男, 在读硕士研究生, 主要从事光谱学方法在疟疾的诊断中的应用及血液免疫分子生物学的研究。

降低至 5 nmol/L 的极限(相当于每微升体积中含有 30 个早期疟原虫体)^[11],在活细胞原位检测时甚至可以达到纳米级的信号收集,扫描的分辨率达 0.5 μm。

2 疟色素结构特性及拉曼光谱技术特点

2.1 疟色素结构及顺磁性 疟色素是由 2 个高铁原卟啉环[Fe(Ⅲ)PPIX]通过疏水键连接形成的二聚体结构^[3,12],见图 1。在疟色素形成过程中血红素中的二价铁被氧化成三价铁,使原子轨道外周含有不成对电子,故使疟色素具有顺磁性。这种特性使疟色素在外加磁场作用下,产生磁力而被吸引,可用于与外周血中其他细胞或物质分离^[13]。国外文献报道,基于外加磁场的疟原虫感染红细胞富集效果(富集效率为 98%)优于密度梯度离心(富集效率为 90%~97%)^[14-15],且具有磁性的表面增强其疟色素的拉曼增强效应明显强于无磁性的表面增强^[16]。

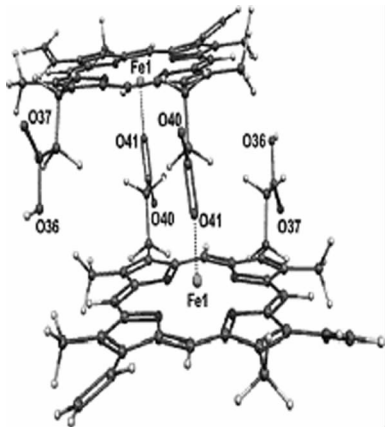


图 1 疟色素二聚体结构

2.2 疟色素的拉曼光谱技术特点 疟色素在拉曼光谱技术激光照射下会产生特异性拉曼光谱,且在不同波长(532、568、633、647、676、830、1 064 nm)下照射下会产生不同特征的拉曼光谱^[17],见图 2,可能与不同波长激光照射时激光频率与分子内部相应分子键或结构共振有关。疟色素的拉曼光谱总结起来有以下几个特点:(1)在 568、830 nm 波长下,拉曼位移 1 372 cm⁻¹处拉曼强度明显强于其他几个波长,且疟色素拉曼位移在 1 372 cm⁻¹处峰强度较血红蛋白高,这与疟色素二聚体之间的四吡啶重叠区域共振有关,1 372 cm⁻¹反映卟啉环反 π* 轨道电荷浓度相关^[18];(2)由于血红蛋白衍生物在 400 nm 附近均有强大的吸收带[邵氏带(Soret band)]的存在,在 420 cm⁻¹处附近有较强的峰,这与卟啉化合物结构有关,可依据此鉴定是否为卟啉化合物;(3)Q 带,其在未插入金属离子时会出现 4 个峰,插入金属离子后减少到 1~2 个峰;(4)在 532~647 nm 波长中 343、368 cm⁻¹处峰强度随着波长增加而增强,且 343 cm⁻¹峰强度强于 368 cm⁻¹处。但当波长超过 647 nm 时 343、368 cm⁻¹处慢慢减弱,这与疟色素二聚体之间形成的丙酸酯键有关;(5)755 cm⁻¹峰强度在 633、647、676 nm 波长激光检测时明显高于其他波长,755 cm⁻¹反映卟啉呼吸环振动^[19];(6)1 623、1 568 cm⁻¹除在 568、830 nm 波长处的强度稍弱外,其他波长下的强度均较强,这与吡咯环振动有关,1 623、1 568 cm⁻¹不仅能反映铁离子的自旋状态,还能反映卟啉环中心孔径(core size,铁离子到吡啶氮离子的距离)的大小^[20]。疟色素与血红蛋白的拉曼光谱比较见表 1,疟色素的主要拉曼光谱特征峰见表 2。

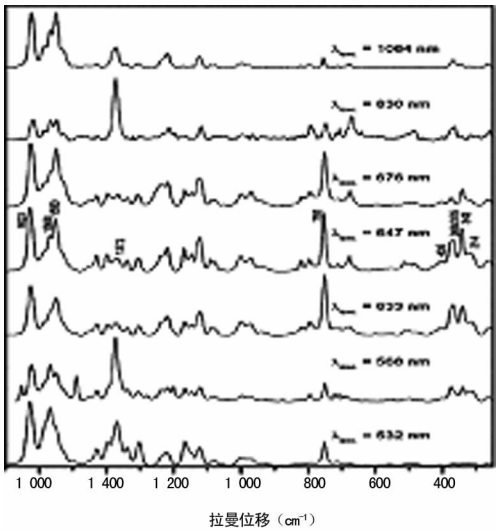


图 2 不同波长下疟色素的拉曼光谱

表 1 血红蛋白、感染红细胞中的疟色素及疟色素的拉曼光谱比较^[2,21]

血红蛋白(cm ⁻¹)	感染红细胞中的疟色素(cm ⁻¹)	疟色素(cm ⁻¹)
1 638	1 638	—
1 618	1 619	—
1 604	1 604	—
1 581	1 578	1 581
1 565	1 563	—
1 546	1 545	—
1 428	1 427	1 430
1 398	1 396	1 398
1 367	1 366	—
1 342	1 343	—
—	1 310	1 308
1 249	1 249	—
1 226	1 225	—
1 172	1 174	—
1 129	1 131	—
1 090	1 087	—
996	998	—
—	972	971
—	796	797
—	757	754

—:无数据。

表 2 疟色素的特征峰^[22]

拉曼位移(cm ⁻¹)	来源	对称性	振动模式
1 623	ν(C=C) vinyl	—	—
1 588	ν37	Eu	ν(Ca=Cb)
1 571	ν2	A1g	ν(CβCβ)
1 553	ν11	B1g	ν(CβCβ)
1 376	ν4	A1g	ν(pyr half-ring) sym
755	ν15	B1g	ν(pyr breathing)
678	ν7	A1g	δ(pyr deform) sym

注:此表根据平面对称卟啉系统评价,其中 ν 为伸缩振动,vinyl 为乙烯基,δ 为平面内变形振动,pyr 为吡咯,deform 为变形,sym 为对称性,half-ring 为半环;—无数据。

3 表面增强拉曼光谱技术在疟色素检测中的应用

拉曼光谱技术检测最大的缺点是拉曼散射信号弱,在疟原虫感染率极低的情况下,拉曼光谱技术检测可能出现假阴性,如果拉曼信号能被增强,将大大提高检出率。表面增强拉曼散射(SERS)的发现,使疟原虫的检测信号大大增强,可达普通拉曼的 $10^4 \sim 10^7$ 倍。SERS定义为当物质分子吸附在一些特定粗糙的金属表面时分子的拉曼散射强度得到大大提升^[23],国外许多文献报道了SERS在拉曼光谱检测疟色素应用中的不错表现如2011年Yuen等^[11]设计了一种以 Fe_3O_4 纳米颗粒为核心,以纳米银颗粒为包壳模式的表面增强,使得这种表面增强带有磁性富集作用,提升了检测灵敏度,达到5 nM的浓度极限(相当于每微升体积中含有30个早期疟原虫体);2年后Yuen等^[24]调整了 Fe_3O_4 纳米颗粒厚度及纳米银包壳大小,优化了以上表面增强,更进一步增强了拉曼信号;Garrett等^[16]根据蝴蝶翅膀纳米结构设计了一种在以蝴蝶翅膀的纳米结构为基质表面镀纳米金的表面增强,这种增强能使检测极限达到虫血率为0.000 05%;Wood等^[25]结合纳米探针技术与表面增强技术,设计了一种针尖增强拉曼散射(TERS),克服了普通表面增强信号收集范围广所带来的信号干扰,实现了纳米级信号的收集,极大地提高了检测分辨率。新型材料石墨烯,具有理想的单层碳原子的二维结构,形成一个蜂窝状晶格平面,具有做表面增强的特性,最近研究表明,石墨烯具有明显的荧光猝灭现象,存在表面增强效应^[26-27]。

4 疟色素应用于拉曼光谱技术检测疟疾的前景

拉曼光谱技术作为新兴手段应用于医学检测方面具有独特的优势,即高灵敏度、高分辨率、快速及标本无需处理等特点,近年来该技术逐渐成为生命科学领域的研究热点。拉曼光谱技术不仅用于血清、体液等的检测,还拓展到活细胞或组织原位研究如正常和感染疟疾的红细胞原位检测、血清中肿瘤标记物检测与定量分析、动脉粥样硬化的早期诊断等,这些研究均取得较好的结果。同时伴随着石墨烯表面增强纳米材料、表面增强、微流控等相关技术的发展,检测阈值和检测时间进一步缩小(或缩短),这对早期诊断疟疾意义非凡。但石墨烯材料作为新发现的材料本身具有做表面增强基底的特性,其将具有巨大应用前景分子印迹技术结合表面增强将来会发挥巨大的应用潜力。拉曼光谱技术推广到临床使用还需要克服几个缺点如固体(或晶体)样品的检测效果优于液体、复杂样品的信号会受到干扰、检测范围小及自动化程度差等。相信在未来这些缺点会被一一克服,拉曼光谱技术凭借其检验特性将有望为医学检验学科的发展增添新动力。

参考文献

- [1] Egan TJ. Recent advances in understanding the mechanism of hemozoin (malaria pigment) formation[J]. J Inorg Biochem, 2008, 102(5/6): 1288-1299.
- [2] Carter WD. Raman spectroscopic study of single red blood cells infected by the malaria parasite plasmodium falciparum[D]. Orlando: the University of Central Florida, 2007.
- [3] Bonifacio A, Finaurini S, Krafft C, et al. Spatial distribution of heme species in erythrocytes infected with Plasmodium falciparum by use of resonance Raman imaging and multivariate analysis[J]. Anal Bioanal Chem, 2008, 392(7/8): 1277-1282.
- [4] 韦娜,冯叙桥,张孝芳,等. 拉曼光谱及其检测时样品前处理的研

- 究进展[J]. 光谱学与光谱分析, 2013, 33(3): 694-698.
- [5] Bilal M, Saleem M, Amanat ST, et al. Optical diagnosis of malaria infection in human plasma using Raman spectroscopy[J]. J Biomed Opt, 2015, 20(1): 17002.
- [6] Frosch T, Koncarevic S, Zedler L, et al. In situ localization and structural analysis of the malaria pigment hemozoin[J]. J Phys Chem B, 2007, 111(37): 11047-11056.
- [7] Ng J, Satkoski J, Premasathan A, et al. A nuclear DNA-based species determination and DNA quantification assay for common poultry species[J]. J Food Sci Technol, 2014, 51(12): 4060-4065.
- [8] Kain KC, Kyle DE, Wongsrichanalai C, et al. Qualitative and semi-quantitative polymerase chain reaction to predict Plasmodium falciparum treatment failure[J]. J Infect Dis, 1994, 170(6): 1626-1630.
- [9] Moody A. Rapid diagnostic tests for malaria parasites[J]. Clin Microbiol Rev, 2002, 15(1): 66-78.
- [10] Srinivasan S, Moody AH, Chiodini PL. Comparison of blood-film microscopy, the OptiMAL dipstick, Rhodamine-123 fluorescence staining and PCR, for monitoring antimalarial treatment[J]. Ann Trop Med Parasitol, 2000, 94(3): 227-232.
- [11] Yuen C, Liu Q. Magnetic field enriched surface enhanced resonance Raman spectroscopy for early malaria diagnosis[J]. J Biomed Opt, 2012, 17(1): 17005.
- [12] 董瑞玲,顾大勇,朱玉兰,等. 拉曼光谱技术在疟疾检测中的应用[J]. 中国热带医学, 2014, 14(10): 1270-1275.
- [13] 姚美雪,王恒. 疟色素在疟原虫检测方面的应用研究进展[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2014, 32(1): 68-71.
- [14] Trang DT, Huy NT, Kariu T, et al. One-step concentration of malarial parasite-infected red blood cells and removal of contaminating white blood cells[J]. Malar J, 2004, 3: 7.
- [15] Bhakdi SC, Ottinger A, Somsri S, et al. Optimized high gradient magnetic separation for isolation of Plasmodium-infected red blood cells[J]. Malar J, 2010, 9: 38.
- [16] Garrett NL, Sekine R, Dixon MW, et al. Bio-sensing with butterfly wings: naturally occurring nano-structures for SERS-based malaria parasite detection[J]. Phys Chem Chem Phys, 2015, 17(33): 21164-21168.
- [17] Frosch T, Koncarevic S, Becker K, et al. Morphology-sensitive Raman modes of the malaria pigment hemozoin[J]. Analyst, 2009, 134(6): 1126-1132.
- [18] Wood BR, Caspers P, Puppels GJ, et al. Resonance Raman spectroscopy of red blood cells using near-infrared laser excitation[J]. Anal Bioanal Chem, 2007, 387(5): 1691-1703.
- [19] 贾文广,陈萍. 拉曼光谱在红细胞及血红蛋白研究中的应用[J]. 内科, 2007, 2(2): 249-251.
- [20] Hirota S, Mizoguchi Y, Yamauchi O, et al. Observation of an isotope-sensitive low-frequency Raman band specific to metmyoglobin[J]. J Biol Inorg Chem, 2002, 7(1/2): 217-221.
- [21] Wood BR, Langford SJ, Cooke BM, et al. Raman imaging of hemozoin within the food vacuole of Plasmodium falciparum trophozoites[J]. FEBS Lett, 2003, 554(3): 247-252.
- [22] Drescher D, Buchner T, Menaughton D, et al. SERS reveals the specific interaction of silver and gold nanoparticles with hemoglobin and red blood cell components[J]. Phys Chem Chem Phys, 2013, 15(15): 5364-5373.
- [23] 周明辉,廖春艳,任兆玉,等. 表面增强拉曼光谱生物成像技术及其应用[J]. 中国光学, 2013, 6(5): 633-642.

[24] Yuen C, Liu Q. Optimization of Fe₃O₄@Ag nanoshells in magnetic field-enriched surface-enhanced resonance Raman scattering for malaria diagnosis[J]. Analyst, 2013, 138(21): 6494-6500.

[25] Wood BR, Bailo E, Khiavi MA, et al. Tip-enhanced Raman scattering (TERS) from hemozoin crystals within a sectioned erythrocyte[J]. Nano Lett, 2011, 11(5): 1868-1873.

[26] 郭书鹏. 石墨烯表面增强拉曼散射效应的探究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2013.

[27] 刘智明, 钟会清, 倪艺榕, 等. 氧化石墨烯-金属纳米复合物的绿色制备及其 SERS 效应[G/OL]. 广东省光学学会 2013 年学术交流会暨“暨”粤港台光学界产学研合作交流大会会议手册论文集, 2013-12-13. [2015-4-30]. <http://kreader.cnki.net/Kreader/CatalogViewPage>.

(收稿日期: 2015-08-27)

• 综 述 •

滤泡辅助性 T 细胞参与自身免疫性疾病发病的研究进展

方忠俊^{1,2}, 王 悦², 阳 帆², 稽晓赞², 刘 军²综述, 李云春²审校

(1. 复旦大学生命科学学院, 上海 200433; 2. 上海市光华中西医结合医院检验科, 上海 200052)

关键词: 自身免疫疾病; 综述; 滤泡辅助性 T 细胞; 发病机制
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 02. 036 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2016)02-0232-03

滤泡辅助性 T 细胞(Tfh)是一群具有辅助 B 淋巴细胞功能、表型为 CXCR5⁺CD40L⁺ 诱导性协同刺激分子(ICOS)⁺ 的 T 淋巴细胞亚群。2000 年 Schaeferli 等^[1] 和 Breitfeld 等^[2] 同时报道了 Tfh 定位于淋巴滤泡, 他们发现 CXCR5、ICOS 分子是该细胞主要的表面标记物。自身免疫性疾病常与 T、B 淋巴细胞的高度活化, 自身抗体类免疫蛋白增多等机体异常免疫应答反应有关。初始 T 淋巴细胞经外来抗原刺激分化为辅助性 T 淋巴细胞(Th), 其分泌的 γ 干扰素 (IFN- γ)、白介素 (IL)-4 等细胞因子对 B 淋巴细胞分泌抗体具有辅助作用。在自身免疫性疾病等病理情况下有研究发现, Tfh 膜表面标志物及分泌的细胞因子表达异常, Tfh 可迁移到非淋巴组织并形成生发中心 (GC), 对其自身的迁移、定位、分化、发育也具有重要作用^[3]。因此, 在淋巴滤泡中和淋巴滤泡外, Tfh 对 B 淋巴细胞增殖和浆细胞分化均具有调控作用, Tfh 异常与自身免疫性疾病的发生、发展具有一定的关系, 现将近年来有关 Tfh 在自身免疫性疾病中的研究进展综述如下。

1 Tfh 功能及膜表面标志物

1.1 Tfh 功能 在 B 淋巴细胞分化过程中一部分 Tfh 持续高表达 CXCR5 与其配体 CXCL13 结合刺激作用下迁移到 B 淋巴细胞滤泡中进行分化成熟, 形成 GC, 主要辅助 B 淋巴细胞分化并发生 Tfh-B 相互作用^[4], 高亲和力 B 淋巴细胞在受 Tfh 刺激后可分化为记忆性 B 淋巴细胞或浆细胞, 促进免疫球蛋白类别的转换, 导致某类高滴度自身抗体的产生, 机体体液免疫应答发生紊乱, 所以, Tfh 功能正常与否是决定机体抗体免疫应答发生的主要因素^[5-6]。

1.2 Tfh 膜表面标志物

1.2.1 CXCR5 在效应 T 淋巴细胞中能够稳定持续地表达 CXCR5 者只有 Tfh, 所以是最早鉴别 Tfh 的重要表面标志物^[7-8]。趋化因子 CXC 家族中高表达 CXCR5, 作为 CXC 亚族趋化因子受体可通过识别其配体 CXCL13 结合并相互作用, 引导 B 淋巴细胞和 Tfh 定位于滤泡形成 GC, 在淋巴组织中经抗原刺激后 CXCR5⁺CD4⁺ T 型效应 T 淋巴细胞明显增多, 能有效辅助 B 淋巴细胞并使其分化为浆细胞, 促进免疫球蛋白类

别的转换。

1.2.2 ICOS ICOS 可与 B 淋巴细胞、抗原呈递细胞、单核细胞等产生的 ICOS 配体 (ICOSL) 结合, 促进 Tfh 分泌炎症细胞因子 IL-21, T 淋巴细胞活化后诱导 Tfh 高水平表达 ICOS 分子, 若使 ICOS 分子产生减少就可阻断 ICOS-ICOSL 相互作用, 减少 IL-21 的表达, 导致 GC 形成障碍及 Tfh 缺失^[9]。在小鼠 B 淋巴细胞上遗传性敲除 ICOSL 的实验结果提示, Tfh 的形成需要来自 B 淋巴细胞上 ICOSL 信号刺激诱导, Yoo 等^[10] 研究证实, ICOS-ICOSL 相互作用对 Tfh 的形成及功能特性和 B 淋巴细胞的发育及分化均具有重要作用。Xu 等^[11] 研究也表明, ICOS 还可通过磷脂酰肌醇 3-激酶信号途径诱导细胞伪足的发生, 促进其在体内持续性运动, 有效迁移到滤泡区。

1.2.3 IL-21 IL-21 是具有执行 Tfh 效应功能、主要由 Tfh、Th17、NKT 细胞等产生的细胞因子^[12]。所有的 B 淋巴细胞均表达 IL-21 受体, 也是 IL-21 的主要靶细胞。有研究证明, IL-21 与 IL-21R 缺陷小鼠体内 Tfh 减少, IL-21 信号缺失对细胞与蛋白抗原的免疫应答影响较大, 所以, IL-21 在促进 B 淋巴细胞增殖、免疫球蛋白类别转换及产生等方面具有重要作用^[13]。IL-21 可促使初始 T 淋巴细胞向 Tfh 分化, 发挥 Tfh 辅助 B 淋巴细胞的功能, 促进 Tfh 向淋巴滤泡和 GC 迁移, 维持 T 淋巴细胞与 B 淋巴细胞的动态平衡^[14]。Karnell 等^[15] 研究表明, IL-21 与细胞活化因子一起可加强 CD40 与其配体 CD40L 的结合而诱导 B 淋巴细胞增殖。此外最近有研究发现, Tfh 还可产生 IL-4, 因 IL-4 拮抗 IL-21 诱导 Blimp-1 表达, 导致 Tfh 发育异常。

1.2.4 细胞淋巴瘤-6 (Bcl-6) Bcl-6 是一种转录调节因子, 包含锌指结构的蛋白, 具有调控初始 T 淋巴细胞发育为 Tfh 的功能。Bcl-6 因子高表达可促进 Tfh 分化, 其缺乏导致 Tfh 无法形成 GC 及分化, 因此, Bcl-6 是初始 T 淋巴细胞发育为 Tfh 的必要条件^[16]。在其他非 Tfh 的 CD4⁺ 细胞上高表达 Blimp-1 作为 Bcl-6 相互拮抗的转录调节因子, 其共同调节机体免疫系统平衡。有研究也证明, Blimp-1 可抑制 Bcl-6 表达及 Tfh 的分化, 但对非 Tfh 的 CD4⁺ 细胞的增殖和分化具有促进作用。