

- [24] Yuen C, Liu Q. Optimization of Fe_3O_4 @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 $\text{CXCR5}^+ \text{CD40L}^+$ 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($\text{IFN-}\gamma$)、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 $\text{CXCR5}^+ \text{CD4}^+$ 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。

Kitano 等^[17]发现, Bcl-6 过度表达可提高 Tfh 的产生并抑制其他 Tfh 的分化。所以, Bcl-6 与 Blimp-1 表达平衡是维持 Tfh 正常发育与功能的关键因素。

2 Tfh 与自身免疫性疾病

自身免疫性疾病是机体在不同病原诱导下产生高滴度自身抗体将自身组织和细胞作为靶向引起强烈异常免疫应答反应, 致使结缔组织和胶原组织严重和持久的结构及功能破坏并出现临床症状的疾病。基于 Tfh 膜表面标志物, 其功能缺陷或亢进均将导致机体免疫状态紊乱, Tfh 在 GC 的形成中具有重要作用, 且异位 GC 在许多自身免疫性疾病的非淋巴组织中均会形成。黄晓梅等^[18]关于 Tfh 在免疫性血小板减少性紫癜患者的表达研究发现, Tfh 参与了调节免疫性血小板减少性紫癜疾病的发生, 且患者外周血 Tfh 占 CD4⁺T 淋巴细胞的比例显著增高, 证实 Tfh 能为免疫性血小板减少性紫癜患者的免疫调节和干预提出新的治疗方向。

2.1 Tfh 与类风湿关节炎(RA) RA 病因至今尚未真正明确, 多种因素均影响疾病的发生、发展, 其病理特征是一种以关节内滑膜细胞增生、衬里层增厚、多种炎症细胞浸润、血管翳形成及侵犯软骨并引起骨质破坏为主要表现的全身性自身免疫性疾病。研究小鼠胶原诱导关节炎(CIA)模型发现, 过多 Tfh 产生将促进细胞激活、分化成浆细胞, 进而分泌大量高亲和力抗体。Ma 等^[19]在 RA 患者外周血中发现, Tfh 表达数量、IL-21 水平、Bcl-6 表达水平均较健康对照组明显升高, 且其升高幅度与血浆中抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体水平有关, Tfh 可促进 IL-21 分泌, 但受 Bcl-6 mRNA 的调控, 所以, Tfh 密切参与了 RA 的发病。此外 Chakera 等^[20]研究表明, RA 患者血循环中 Tfh 表达的免疫球蛋白超家族受体 CD200 增加显著, 提示信号旁路(CD200/CD200)可作为 RA 潜在的预防及治疗靶点。周萌等^[21]研究发现, RA 患者关节滑膜组织中存在 CD4⁺CXCR5⁺ICOS⁺Tfh, 而骨关节炎及正常滑膜中未检测到 Tfh, 提示在初发 RA 患者血浆中可溶性程序性死亡受体-1(PD-1)水平与 RA 疾病活动度有关, 且 PD-1 水平升高与类风湿因子、抗 CCP 抗体、IL-21 等呈正相关; Greisen 等^[22]在研究中也证明了 Tfh 与 RA 疾病的重要关系。

2.2 Tfh 与系统性红斑狼疮(SLE) SLE 发病机制与多因素有关, 其重要发病机制之一是 B 淋巴细胞持续过度活化产生自身抗体。Linterman 等^[23]在狼疮小鼠模型中发现, Tfh 在滤泡处大量集聚并分泌高滴度自身抗体。Simpson 等^[24]证实了疾病的严重程度与 GC 的形成相关, 同时发现, SLE 患者高滴度抗双链 DNA(ds-DNA)抗体、CXCR5、ICOS 及 CD40L 等表达均高于健康对照组。Wu 等^[25]在观察 40 例 SLE 患者使用抗-CD3 单克隆抗体治疗前后的临床指标差异中发现, SLE 发病机制可能与 Tfh 过度表达、IL-21 过量分泌、高滴度自身抗体等有关。此外国内外还有研究表明, 转录因子 Bcl-6 与 SLE 发病有关^[23-26], 在狼疮小鼠模型中阻断 CD40-CD40L/ICOS-ICOSL 相互作用可抑制 GC 的形成。

2.3 Tfh 与 1 型糖尿病(T1DM) T1DM 是由 T 淋巴细胞介导的胰岛 B 细胞选择性破坏所致的自身免疫性疾病, Tfh 分泌的细胞因子 IL-21 是 T1DM 的关键易感性因子。Corthay^[27]研究证实, IL-21R 缺陷 K/BxN 小鼠可阻止 IL-21 在非肥胖性糖尿病(NOD)中的致病作用。李丽等^[28]发现, 初发 T1DM 患者外周血 Tfh 比例显著增加并伴随 B 淋巴细胞及谷氨酸脱羧

酶抗体滴度的上升, 表明 Tfh 可能参与了 T1DM 的发病。

2.4 Tfh 与自身免疫性肝炎 IL-21 细胞因子可促进 CD8⁺T 淋巴细胞活化, 自身免疫性肝炎是受 CD8⁺T 淋巴细胞活化而诱发的, 所以, 调控肝脏内 Tfh 数量而调控 IL-21 细胞因子表达量, 可抑制自身免疫性肝炎的发生。Aoki 等^[29]通过切除 PD-1 缺陷小鼠胸腺, 建立 NTx-PD-1(-/-)小鼠模型后发现, 小鼠脾内 B 细胞区内存在大量 Tfh 并迁移至肝脏内, 诱发致死性自身免疫性肝炎。

2.5 Tfh 与重症肌无力(MG) Saito 等^[30]研究发现, 外周血 CD4⁺CXCR5⁺T 淋巴细胞比例在 MG 患者治疗前明显高于健康者, 且与疾病严重程度相关, 治疗后与健康者比较差异无统计学意义($P>0.05$)。胡波等^[31]研究发现, 在 MG 患者血清 IL-21 水平明显高于健康对照组, B 淋巴细胞上的 IL-21R 与 IL-21 相互作用, 促进 B 淋巴细胞增殖、免疫球蛋白类别的转换, 诱导 MG 患者血清中抗 Ab 向 IgG1 和 IgG3 亚型转换, 引起 MG 发病。MG 属于自身免疫性疾病, 主要受乙酰胆碱受体抗体(Ab)介导、细胞免疫依赖、补体参与, 所以, 通过观察机体 Tfh 效应分子 CXCR5、IL-21 在不同阶段的变化, 可为 MG 的预防及治疗提供新途径。

国内外亦有研究表明, Tfh 参与了多种其他自身免疫性疾病包括多发性硬化症、干燥综合征、自身免疫性甲状腺炎、免疫缺陷性疾病、肿瘤等, Tfh 表达数量或功能失调贯穿了自身免疫性疾病发生、发展, 但具体机制尚需进一步研究^[32]。

综上所述, Tfh 作为一个新的 T 淋巴细胞亚群, 辅助于体液免疫 B 淋巴细胞, 是抗体产生及调节机制中的重要因素, 且 Tfh 异常增多或相关效应分子异常表达与自身免疫性疾病相关如通过有效抑制 Tfh 相关因子信号通路、中和多余免疫紊乱产生的炎症因子、减少 GC 和高浓度自身抗体形成等, 即如何有效抑制相关因子的表达数量及功能, 从而达到治疗自身免疫性疾病的目的尚有待于进一步研究。随着研究的不断进展, 其终将成为治疗某些自身免疫性疾病的新靶点。

参考文献

- [1] Schaerli P, Wiilimann K, Lang AB, et al. CXC chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper-function[J]. J Exp Med, 2000, 192(11):1553-1562.
- [2] Breitfeld D, Ohl L, Kremmer E, et al. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, Localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production[J]. J Exp Med, 2000, 192(11):1545-1551.
- [3] Freeman GJ, Long AJ, Iwai Y, et al. Engagement of the PD-1 immunoinhibitory receptor by a novel B7 family member leads to negative regulation of lymphocyte activation[J]. J Exp Med, 2000, 192(7):1027-1034.
- [4] Shekhar S, Yang X. The darker side of follicular helper T cells: from autoimmunity to immunodeficiency[J]. Cell Mol Immunol, 2012, 9(5):380-385.
- [5] Ma CS, Deenick EK, Batten M, et al. The origins, function, and regulation of T follicular helper cells[J]. J Exp Med, 2012, 209(7):1241-1253.
- [6] 骆菲菲, 储以微. TFH: 抗体免疫应答的真正辅助者[J]. 国际免疫学杂志, 2009, 32(6):435-437.
- [7] Moser B, Schaerli P, Loetscher P. CXCR5(+) T cells: follicular homing takes center stage in T-helper-cell responses[J]. Trends

Immunol, 2002, 23(5): 250-254.

[8] Haynes NM, Allen CD, Lesley R, et al. Role of CXCR5 and CCR7 in follicular Th cell positioning and appearance of a programmed cell death gene-1high germinal center-associated subpopulation [J]. J Immunol, 2007, 179(8): 5099-5108.

[9] Maeda S, Fujimoto M, Matsushita T, et al. Inducible costimulator (ICOS) and ICOS ligand signaling has pivotal roles in skin wound healing via cytokine production [J]. Am J Pathol, 2011, 179(5): 2360-2369.

[10] Yoo JK, Fish EN, Braeiale TJ. LAPCs promote follicular helper T cell differentiation of Ag-primed CD4+ T cells during respiratory virus infection [J]. J Exp Med, 2012, 209(10): 1853-1867.

[11] Xu H, Li X, Liu D, et al. Follicular T-helper cell recruitment governed by stander B cells and ICOS-driven motility [J]. Nature, 2013, 496(7446): 523-527.

[12] Spolski R, Leonard WJ. Interleukin-21: basic biology and implications for cancer and autoimmunity [J]. Annu Rev Immunol, 2008, 26: 57-79.

[13] Kemeny DM. The role of the T follicular helper cells in allergic disease [J]. Cell Mol Immunol, 2012, 9(5): 386-389.

[14] Errier B, Costedoat-Chalumeau N, Garrido M, et al. Interleukin 21 correlates with T cell and B cell subset alterations in systemic lupus erythematosus [J]. J Rheumatol, 2012, 39(9): 1819-1828.

[15] Karnell JL, Ettinger R. The Interplay of IL-21 and BAFF in the Formation and Maintenance of Human B Cell Memory [J]. Front Immunol, 2012, 3: 2.

[16] Lee SK, Rigby RJ, Zotos D, et al. B cell priming for extrafollicular antibody responses requires Bcl-6 expression by T cells [J]. J Exp Med, 2011, 208(7): 1377-1388.

[17] Kitano M, Moriyama S, Ando Y, et al. Bcl6 protein expression shapes pre-germinal center B cell dynamics and follicular helper T cell heterogeneity [J]. Immunity, 2011, 34(6): 961-972.

[18] 黄晓梅, 陈协群, 高广勋, 等. 滤泡辅助性 T 细胞在特发性血小板减少性紫癜患者的变化及其意义 [J]. 现代生物医学进展, 2011, 11(5): 827-829.

[19] Ma J, Zhu C, Ma B, et al. Increased frequency of circulating follicular helper T cells in patients with rheumatoid arthritis [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 827480.

[20] Chakera A, Bennett SC, Morteau O, et al. The phenotype of circulating follicular-helper T cells in patients with rheumatoid arthritis defines CD200 as a potential therapeutic target [J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 948218.

[21] 周萌, 陈陆俊, 褚阳, 等. 滤泡辅助性 T 细胞在类风湿性关节炎滑膜中鉴定的研究 [J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(7): 1608.

[22] Greisen SR, Rasmussen TK, Stengaard-Pedersen K, et al. Increased soluble programmed death-1 (sPD-1) is associated with disease activity and radiographic progression in early rheumatoid arthritis [J]. Scand J Rheumatol, 2014, 43(2): 101-108.

[23] Linterman MA, Vinuesa CG. T follicular helper cells during immunity and tolerance [J]. Prog Mol Biol Transl Sci, 2010, 92: 207-248.

[24] Simpson N, Gatenby PA, Wilson A, et al. Expansion of circulating T cells resembling follicular helper T cells is a fixed phenotype that identifies a subset of severe systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 2012, 62(1): 234-244.

[25] Wu HY, Quintana FJ, Weiner HL. Nasal anti-CD3 antibody ameliorates lupus by inducing an IL-10-secreting CD4+ CD25-LAP+ regulatory T cell and is associated with down-regulation of IL-17+ CD4+ ICOS+ CXCR5+ follicular helper T cells [J]. J Immunol, 2008, 181(9): 6038-6050.

[26] 王振刚. 2011 年国际风湿病研究中 10 个热点问题 [J]. 中国医刊, 2012, 47(7): 3-6.

[27] Corthay A. How do regulatory T cells work? [J]. Scand J Immunol, 2009, 70(4): 326-336.

[28] 李丽, 杨明兰, 张娟娟, 等. 初发 1 型糖尿病患者外周血滤泡辅助性 T 细胞的变化特点 [J]. 中华内分泌代谢杂志, 2014, 30(5): 377-380.

[29] Aoki N, Kido M, Iwamoto S, et al. Dysregulated generation of follicular helper T cells in the spleen triggers fatal autoimmune hepatitis in mice [J]. Gastroenterology, 2011, 140(4): 1322-1333.

[30] Saito R, Onedera H, Tago H, et al. Altered expression of chemokine receptor CXCR5 on T cells of myasthenia gravis patients [J]. J Neuroimmunol, 2005, 170(1/2): 172-178.

[31] 胡波, 田晓琳, 黄慧芬, 等. 重症肌无力患者外周血中 IL-21 的表达及其与血清抗 AChR 抗体类别转换的关系 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2010, 35(9): 958-963.

[32] 唐凌雯, 李作孝. 滤泡辅助性 T 细胞及在自身免疫性疾病发病中所起作用的研究进展 [J]. 中国医刊, 2014, 49(1): 28-30.

(收稿日期: 2015-06-20)

(上接第 225 页)

心理健康状况调查分析 [J]. 当代医学, 2012, 18(27): 5-7.

[2] 周金霞, 段爱军, 王发展, 等. 医学检验人员身心健康状况的调查 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(34): 34-37.

[3] 谭旭明, 饶小英, 邱跃华. 医学检验人员职业疲劳的相关因素分析 [J]. 中国基层医药, 2006, 13(12): 2053-2054.

[4] 杨丽娟. 医学检验专业学生临床实习心理调查分析 [J]. 卫生职业教育, 2008, 26(7): 138-139.

[5] 韦仕高. 医院检验人员心理压力原因分析与对策 [J]. 基层医学论坛, 2008, 12(35): 1119-1120.

[6] 朱杰, 王乐见, 周勇, 等. 医学检验人员心理压力分析与应对干预 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(3): 149-150.

[7] 许传志, 孙艳春, 苏媛, 等. 医学生的心理健康状况及影响因素分析 [J]. 卫生软科学, 2010, 24(3): 249-251.

[8] 张红兰, 郑文清, 侯艳. 医学生心理健康状况调查 [J]. 中国校外教育: 下旬刊, 2010(1): 28.

[9] 向莉, 李淑慧, 张阳, 等. 医学检验专业学员的心理问题浅析 [J]. 国际检验医学杂志, 2014, 35(10): 1368-1369.

[10] 武秋燕, 徐凌忠. 2011—2013 年济南市医学检验人员身心健康状况调查 [J]. 预防医学论坛, 2015, 21(2): 106-108.

[11] 吴一玲, 汪妍, 丰辉, 等. 高职医学生心理卫生知识知晓率调查分析 [J]. 卫生职业教育, 2013, 31(16): 108-110.

(收稿日期: 2015-08-29)

