

转换生长因子 β 超家族对自身免疫性肝病中辅助性T细胞17/调节性T细胞平衡的作用

沈起艳, 龚作炯 (武汉大学人民医院 感染科, 湖北 武汉 430060)

摘要: CD4⁺ T细胞是机体维持自身免疫耐受性与免疫调控稳态的中心, 而辅助性T细胞17 (type 17 helper T cell, Th17) 和调节性T细胞 (regulatory T cell, Treg cell) 是参与免疫系统发挥致病性及排他性的2个重要亚群, 二者在体内对立相生, 在一定条件下可相互转化, 二者间的分化平衡是维持机体免疫自稳的基石。多条信号转导通路参与Th17/Treg平衡, 其中转换生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 及其家族分子对Th17及Treg细胞的分化和Th17/Treg平衡的维持具有关键作用。研究表明, 自身免疫性肝病患者的炎症因子水平异常, Th17/Treg平衡失调。本文对TGF- β /Smad信号转导通路对自身免疫性肝病中Th17/Treg平衡的作用及潜在治疗靶点进行综述。

关键词: 自身免疫性肝病; 辅助性T细胞17; 调节性T细胞; 转换生长因子 β

The role of transforming growth factor- β superfamily on regulating type 17 helper T cell / regulatory T cell balance in autoimmune liver disease

Shen Qian, Gong Zuojiong (*Department of Infectious Diseases, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Wuhan 430060, China*)

Abstract: CD4⁺ T cells are the center of maintaining autoimmune tolerance and immune regulation homeostasis in the body, while type 17 helper T cell (Th17) and regulatory T cell (Treg cell) are two subtypes of CD4⁺ T cells involved in the pathogenicity and exclusivity of the immune system. They are in opposition to each other in the body and can transform into each other under certain conditions. The balance between these subtypes is the cornerstone of maintaining immune homeostasis in the body. Several signaling transduction pathways contribute to the regulation of Th17/Treg balance, with transforming growth factor- β (TGF- β) and its family of molecules playing a central role in the differentiation of Th17 and Treg cells as well as in maintaining this balance. Researches had identified abnormalities in the release of inflammatory factors and an imbalance in Th17/Treg ratio in autoimmune liver diseases. This article reviewed the role of TGF- β superfamily and related signaling transduction pathways on regulating Th17/Treg balance in these diseases.

Keywords: Autoimmune liver disease; Type 17 helper T cell; Regulatory T cell; Transforming growth factor β

辅助性T细胞17 (type 17 helper T cell, Th17) 和调节性T细胞 (regulatory T cell, Treg cell) 是参与CD4⁺ T细胞发挥免疫作用的2个重要细胞类型,

在平衡自身免疫方面发挥至关重要的作用。Th17在免疫系统具有双重作用, 受到不同细胞因子刺激时会出现不同反应, 即存在致病性与非致病性T细胞2种分化模式。初始CD4⁺ T细胞在转换生长因子 β (transforming growth factor- β , TGF- β) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 的共同诱导下可定向

表达为非致病性的Th17, 这种细胞的显著特点是分泌的促炎分子如粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage-colony stimulating factor, GM-CSF)、IL-23R等较少, 而高表达免疫调节因子IL-10、CD5L, 从而参与免疫稳态的维持^[1]。而IL-6、IL-23与IL-1 β 可驱动致病性Th17的产生, 表现为促炎型细胞因子分泌显著增加。

Treg细胞作为机体免疫的“刹车”, 特征性表达细胞核转录因子叉头翼转录因子(forkhead box p3, FOXP3), 可抑制免疫应答^[2], 其相应机制可能在于促进负性细胞因子如IL-10、TGF- β 和IL-35等的分泌, 这些因子进而与颗粒酶和穿孔素等蛋白体相互作用来杀死效应细胞。Th17与Treg细胞在体内的作用相反, 并在特定条件下可发生相互转化。TGF- β 是Th17与Treg细胞分化的核心, TGF- β 可通过复杂的信号转导途径以背景和微环境依赖的方式平衡Th17及Treg细胞的分化模式从而干预免疫应答^[3]。而T细胞向Th17与Treg细胞定向分化是机体自稳的基础, Th17/Treg细胞比例失常或功能异常与多种疾病尤其是自身免疫性疾病(如1型糖尿病和系统性红斑狼疮)相关^[4]。在自身免疫性肝病中, Treg细胞比例和Treg/Th17比率降低, IL-17和IL-22表达增加, 并且可通过健康的CD4⁺CD25⁺T细胞过继转移来纠正, Treg/Th17与自身免疫性肝病的预后密切相关^[5]。

研究表明, Th17/Treg的平衡及机体免疫应答的过程中有多种信号分子及代谢途径的参与, 如转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)可通过T细胞抗原受体(T-cell receptor, TCR)信号转导通路参与调控Th17的转分化过程^[6], TGF- β /Smad^[7]、IL-7/IL7R^[8]及核转录因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)等信号转导通路^[9]以及谷氨酰胺酶依赖性代谢^[10]、脂肪酸代谢、糖代谢等相关代谢通路对T细胞分化为Th17或Treg细胞的过程也有特定的作用。其中, 通过TGF- β /Smad信号转导通路调节Th17和Treg细胞的分化, 从而深入了解其在自身免疫性肝病中的作用是当前研究的热点, 本文对近年来TGF- β /Smad信号转导通路在自身免疫性肝病Th17/Treg平衡方面的研究进展进行综述, 旨在为深入了解自身免疫性肝病的发病机制及潜在治疗策略提供一定参考。

1 TGF- β 超家族

TGF- β 超家族是一种由多个结构和功能密切相关的亚家族组成的功能性生长因子家族共同体, 它涵盖了TGF- β 蛋白、骨形态发生蛋白(bone morphogenetic protein, BMP)、生长分化因子

(growth and differentiation factor, GDF)、激活素、抑制素等亚家族分子^[11]。目前, 人类和小鼠基因组测序已确认人类中共存在33个TGF- β 相关家族蛋白, 包括3种TGF- β 同分异构体(TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3), 10个BMP和11个GDF, 以及激活素、抑制素和结缔素(Nodal)等亚家族调节因子, 它们往往都以二聚体分泌型多肽的形式表达, 通常表现为同源二聚体的形式, 细胞的生长增殖、分化、凋亡、上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)等过程也有异源二聚体形式的参与。

TGF- β 超家族一直是研究的热点, Roberts于1981年发现了TGF- β 的自身活性并在1982年成功提取出具有活性作用的TGF- β ; Derynck于1985年揭示了人源TGF- β 1具有cDNA特征; Mathews和Vale于1991年分离了激活素受体的cDNA克隆; Savage于1996年揭示了3种Smad蛋白基因, 即Smad1、Smad2、Smad3; Daopin及Schlunegger等揭示了哺乳动物中存在3种在结构及功能上高度相似的TGF- β 亚分型, 即TGF- β 1、TGF- β 2、TGF- β 3。大量研究表明, TGF- β 信号级联调控免疫与其对基因表达的介入相关^[7]。除此之外, TGF- β 还调节非编码RNA的表达, 如microRNA和长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA), 进而推动细胞免疫干涉细胞增殖分化等生理过程, 甚至驱动一些病理过程如组织纤维化。TGF- β 受体下游的信号蛋白因子Smad蛋白(Smad1~8)根据其功能差异可分为以下3种: ①受体调控的Smad(receptor-regulated Smad, R-Smad), 包括Smad1、Smad2、Smad3、Smad5、Smad8; ②通用Smad(common Smad, Co-Smad), 包括Smad4; ③抑制型Smad(inhibitory Smad, I-Smad), 包括Smad6、Smad7^[12]。BMP最初被确定为软骨和骨形成的调节因子, 经研究发现其是胚胎发生和发育过程中重要的形态发生素, 并调节成体组织内稳态的维持。除上述亚家族成员外, TGF- β 超家族还有一些“远戚”, 如GDNF家族蛋白, 其主要包括神经鞘肽素和胶质细胞源性神经营养因子。此外, 还有一些其他TGF- β 远距离分子, 如Nodal蛋白等超家族配体蛋白^[13]。

2 TGF- β /Smad 信号转导通路

TGF- β 通路是典型的膜-核信号转导过程, 此过程涉及到配体、受体及下游信号分子等, TGF- β 亚家族成员的膜信号受体有2种, 即2个II型受体和2个I型受体^[14], 即TGF- β R1(也称为T β R-I)和TGF- β R2(也称为T β R-II), 它们通常是丝氨酸/苏

氨酸激酶型受体。TGF- β 1、TGF- β 2和TGF- β 3是TGF- β R1/TGF- β R2复合物的唯一配体,可与相应受体发生识别及结合。经典的通路表达过程如下:TGF- β 配体和细胞膜上的TGF- β R2结合,结合后TGF- β R2发生自磷酸化并通过磷酸化TGF- β R1胞内结构域中的GS区来激活TGF- β R1,活化的TGF- β R1依次使R-Smad分子的C末端“SXS”序列磷酸化并通过激活此基序来启动R-Smad(Smad2、3)的功能^[15,16]。抑制性分子成员I-Smad如Smad7可竞争性结合TGF- β R1,阻止R-Smad信号的启动,I-Smad不仅拮抗R-Smad结合受体,还可下调细胞质中R-Smad的表达,其还能迁移至细胞核中,作为转录负向调控蛋白发挥作用。而活化型R-Smad可与Co-Smad(Smad4)结合形成聚合体,此复合体迁移至细胞核中继续与高亲和的DNA结合转录因子和染色质重塑蛋白结合,靶向调控基因转录,进而参与机体的生理过程。除了典型的Smad信号外,TGF- β 还可通过非Smad蛋白驱动,TGF- β 相应受体激活后可发挥激酶活性作用,从而驱动各种旁路途径,通过激活如丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)和Ras同源基因家族成员A(ras homolog family member A, RhoA)等相互作用蛋白来间接参与下游细胞反应。

3 TGF- β /Smad 信号转导通路 与 Th17/Treg 平衡

研究表明Th17与Treg细胞在机体内互斥共生且相互依存^[17]。二者间的分化平衡是机体维持免疫稳态的关键,而TGF- β 家族相关分子及共享信号分子Smad2、Smad4、SKI参与调节Th17的致病性^[3],并可诱导CD4⁺ T细胞向Treg细胞分化^[18]。现从以下几方面论述TGF- β /Smad信号转导通路如何参与调控Th17/Treg的分化过程并影响机体的活动。

3.1 TGF- β 调节T细胞分化稳态 研究表明,TGF- β 以剂量依赖和环境依赖方式参与维持Th17与Treg间数量及功能的稳定性及平衡性^[19],TGF- β 可促进处于激活状态的CD4⁺ T细胞定向表达FOXP3,而IL-6可正向促进重要转录分子维甲酸相关孤儿受体 γ t(retinoid-related orphan receptor γ t, ROR γ t)的共表达。TGF- β 低浓度时,可自分泌产生IL-21等免疫因子的Th17,并在这些因子的协同作用下实现自身结构与功能的完善。该作用主要是通过促进IL-23R及IL-6R α 的表达实现的。TGF- β 高浓度时可抑制这一过程,同时促进FOXP3的表达,而IL-6又可反向诱导Th17产生FOXP3^[20]。高水平的TGF- β 还可抑制ROR γ t、ROR α 以及通过与Runx1相互作用抑制IL-17位点来拮抗Th17分化,进而利于诱导性调节Treg细胞(induced

regulatory T cell, iTreg)化。

IL-21和IL-6可通过增强Th17程序和拮抗Treg细胞程序来促进Th17分化,研究表明IL-6和IL-21可通过JAK磷酸化,从而激活JAK/STAT3信号转导通路。增加STAT3的负反馈抑制剂——细胞因子信号传导抑制因子3(suppressors of cytokine signaling3, SOCS3)的表达,而TGF- β 以剂量依赖性方式抑制这一过程^[21]。抑制TGF- β R I或TGF- β R II可影响TGF- β 功能,导致IL-6正向诱导SOCS3的表达,下调STAT3的激活,对T细胞向Th17分化起抑制作用。TGF- β 受体下游分子R-Smad也可参与T细胞的分化过程。R-Smad2与R-Smad3在此分化过程中发挥不同作用^[22,23]。据报道,在实验性变态反应性脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)小鼠疾病模型中,若将R-Smad2基因敲除,Th17分化较未敲除的小鼠将减少,有研究发现这一现象的潜在机制是R-Smad2通过与ROR γ t相互作用而上调IL-17的表达,但不影响维甲酸相关孤儿受体c基因(retinoid-related orphan receptor c, RORc)表达^[21]。与之不同的是,R-Smad3基因敲除的小鼠体内ROR γ t表达增加,Th17分化增加^[24],这一结果可能与其体内ROR γ t的表达受到抑制有关。这2种R-Smad亚型分子功能差异的原因在于R-Smad2在连接区被细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)磷酸化,并可作为共激活因子与STAT3和p300结合以增强ROR γ t诱导Th17分化的功能,与之相反,R-Smad3连接区不会被磷酸化,其主要是通过与STAT3和活化STAT3的蛋白质抑制剂(protein inhibitor of activated STAT3, PIAS3)结合并协同干扰Rorc的功能并下调表达IL17a基因。

3.2 TGF- β 调控Smad蛋白功能 TGF- β 可通过Smad3诱导FOXP3表达,从而诱导驱动T细胞向Treg细胞定向分化,还可通过刺激IL-2的转录蛋白分子STAT5助力FOXP3的表达。FOXP3的表达主要由在胸腺中发育的tTreg细胞来诱导,以响应中强度的TCR刺激以及由激活的自反应性胸腺细胞产生的IL-2。TGF- β R和Smad蛋白通过激活FOXP3位点的CNS1促进FOXP3表达和Treg细胞生成,TGF- β R和Smad蛋白还可通过驱动启动子、CNS2和CNS3区域整合包括TCR、CD28、CD25和各种转录因子在内的多种上游信号来实现诱导FOXP3的表达并维持其稳定性。表达FOXP3的Treg细胞可通过分泌负性炎症因子如TGF- β 、IL-10、杀伤性蛋白颗粒酶以及CTLA-4免疫球蛋白受体来抑制抗原呈递细胞(如

巨噬细胞、树突状细胞)的呈递功能,进而负向驱动T细胞的激活。Treg细胞还可通过CC基序趋化因子受体6(CC motif chemokine receptor 6, CCR6)介导的趋化作用以及双调蛋白和CCN3介导的组织再生促进组织修复,以维持健康和疾病中的耐受性和稳态。

另有研究表明,R-Smad2与转录中介因子三联体结构域蛋白33(tripartite motif containing 33, TRIM33)具有相关性,TRIM33缺陷可导致EAE的发生,R-Smad2存在时,TRIM33可与IL17a和IL10基因座结合,强化表达IL-17,而IL-10的表达有所削减,有助于分化生成致病性Th17模式^[25]。但参与Th17和Treg细胞分化的具体过程中,R-Smad2的促进作用与R-Smad3的抑制作用谁占主导还存在争议,需进一步研究。

TGF- β 的另一个机制是破坏SKI/Co-Smad4复合物以允许Rorc表达和Th17分化。研究发现,R-Smad蛋白存在连接区,TCR诱导驱动的有丝分裂原活化蛋白激酶/细胞外信号调节激酶(mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase, MEKK2/3)和ERK活化可使R-Smad2和R-Smad3连接区磷酸化^[26]。当MEKK缺失时,TGF促进分化的能力增强。TGF- β 通过下游信号影响Rorc表达和Th17分化的可能机制如下:Co-Smad4可在无TGF- β 刺激下抑制Th17分化,即在没有TGF- β 存在时,SKI通过与Rorc基因座上的Co-Smad4而非IL17基因座上的Co-Smad4相关联并趋化组蛋白去乙酰化酶至Rorc基因座并抑制Rorc的功能,而低浓度TGF- β 可触发SKI降解,从而减轻SKI/Co-Smad4复合物介导的Rorc表达抑制。由此可见,Smad蛋白可通过整合各种环境因素来实现正向或负向调节Th17的分化。

作为TGF- β 受体下游信号分子,Smad在肝病进展中也有重要作用^[11,22],Smad蛋白结构上存在2个保守结构域,即N端Mad同源性1和C端Mad同源性2。不同Smad蛋白亚型不仅具有高度同源的结构序列,在介导TGF- β 家族信号级联上也高度协同。肝纤维化是自身免疫性肝病发展到晚期的病理状态,对提示自身免疫性肝病的预后有一定意义,这些过程也与TGF- β /Smad通路相关。不同Smad蛋白亚型对肝纤维化的作用也不尽相同,在TGF- β 1介导的纤维化过程中,Smad3和Smad4具有正向效应,而Smad2和Smad7则相反,即对机体具有保护性功能。体外研究表明,在人肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)中,敲除Smad2可增强Smad3依赖的肝纤维化

进程^[27],这一效应可能与增加Smad2促进Smad3的磷酸化、核转位及I型胶原蛋白表达的上调有关。在信号级联反应中,Smad4可与Smad2、Smad3相互作用延缓肝纤维化进程,这些不同的亚型相互依存,Smad4受损也会影响Smad3调控基因转录的功能。Smad7可负性介导Smad3诱导的纤维化发生,在TGF- β 1诱导的HSC激活期间,在纤维化肝脏中可观察到Smad7表达显著降低的现象。

3.3 TGF- β 与CD4⁺ T细胞 CD4⁺ T细胞向各种亚型如Th1、Th2、Th17、Treg的分化进程中,与细胞因子及炎症分子密切相关,而TGF- β 及其信号通路对T细胞的分化与功能表达至关重要。Wu等^[3]揭示了Th17的两面性,其发现致病性Th17和非致病性Th17的分化依赖激活素A和TGF- β 1差异化调控下游ERK信号的激活水平。细胞因子组合IL-1 β 、IL-6、IL-23可诱导致病性Th17(pathogenic Th17, pTh17)的分化,而经典的TGF- β 1和IL-6能诱导非致病性Th17的分化。通过构建持续激活形式(constitutively active form, CA)的激活素受体样激酶4(activin receptor-like kinase 4, ALK4)和ALK5替代Activin-A和TGF- β 1信号,发现CA-ALK4促进致病性Th17相关基因表达而CA-ALK5促使调节性因子IL-10水平升高^[3]。提示细胞自反馈的激活素A-ALK4信号特异性促进致病性Th17的分化,而TGF- β -ALK5可通过抑制ERK磷酸化参与非致病性Th17的分化。

在CD4⁺ T细胞中,潜伏性TGF- β 主要来源于Treg细胞,它可独特表达糖蛋白A重复序列主要成分(glycoprotein A repetitions predominant, GARP)和整联蛋白来激活TGF- β 。根据来源不同,Treg细胞有不同亚型,源自胸腺的Treg细胞被称为tTreg细胞,外周产生的则被称为pTreg细胞。当CD4⁺ T细胞在TGF- β 存在下被激活时,在细胞培养中可促使Treg细胞被诱导生成iTreg细胞。研究表明外周胸腺衍生的Treg细胞和体外诱导Treg细胞的发育均需要TGF- β 信号转导通路的参与^[28]。当抗原由树突状细胞呈递给Treg细胞后,Treg细胞被激活并分泌TGF- β 1前体。活性TGF- β 1作用于天然CD4⁺ T细胞,促进其分化为iTreg细胞和Th17,抑制其分化为Th1或Th2细胞。有研究表明,体外诱导的iTreg细胞产生的胞外囊泡具有良好的抗炎功能,可有效缓解病情,这一功能与其调控关节炎小鼠中Th17/Treg失衡有一定关系^[29]。

4 Th17/Treg 平衡与自身免疫性肝病

自身免疫性肝病是一种慢性炎性肝胆损伤疾

病,其特征为免疫调节失衡导致免疫相关分子对自身肝组织产生攻击与伤害^[30],其疾病谱包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性胆管炎(primary biliary cholangitis, PBC)、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)和IgG4相关硬化性胆管炎(immunoglobulin-G 4 related sclerosing cholangitis, IgG4-SC)。T细胞尤其是调节性T细胞Th17与辅助性T细胞Treg间的平衡紊乱参与了自身免疫性肝病的发病并可造成机体免疫失稳态。自身免疫的异常激活是导致自身免疫性肝病的重要机制之一,其中,细胞免疫是这一病理反应中的重要角色。研究表明,由人源CYP2D6构建的急性肝损伤小鼠模型中能观察到免疫因子及T细胞失衡的现象,与健康小鼠相比,自身免疫性肝病小鼠体内存在炎症因子如IL-17、IL-6、IL-21和肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)高表达的现象, Th17/Treg比例相对降低,这表明Th17/Treg失衡可能参与调控自身免疫变态失常,对自身肝细胞造成炎性打击^[5]。

4.1 T细胞亚群异常与AIH 不同亚群的CD4⁺ T细胞特别是Treg细胞,在AIH中发挥重要作用。研究表明, Treg细胞可与CD4⁺ CD25⁻ T细胞直接接触,并分泌调节型细胞因子如IL-4、IL-10、TGF- β 来抑制自身免疫,也可通过CD39和CD73的表达介导免疫抑制^[31]。AIH患者存在T细胞(尤其是Treg细胞)功能失调现象,其Treg细胞特征表现为抑制Th17分泌IL-17的能力降低,这可能与其胞外核苷三磷酸二磷酸水解酶1(ectonucleoside triphosphate diphosphohydrolase 1, NTPDase-1)活性下降有一定关系。在AIH等免疫疾病中Treg细胞数量是否减少目前尚无定论。Th17可分泌IL-17、IL-22和TNF- α 等炎症因子,研究发现AIH的疾病活动与IL-17水平及Rorc2表达有关,与正常人群相比, AIH患者外周Treg细胞数量下降,且Treg细胞功能紊乱,如其对效应T淋巴细胞的免疫抑制功能减弱,这一过程可能与其维持免疫耐受及分泌IL-10的能力减弱有关^[5]。深入理解自身免疫性肝病的发病机制对探索干预或治疗的新靶点有一定帮助。根据上述AIH患者Treg细胞数量及功能的变化可合理推测, Treg细胞回输治疗可能有利于重建AIH患者机体的免疫应答。有研究人员通过过继回输Treg细胞来干预AIH患者的疾病进展,结果表明经回输治疗后缓解的AIH患者可有效诱导炎症缓解,与未经回输治疗者相比,其T细胞负向免疫调节作用得到明显改善。另有研究表明, CYP2D6诱导的AIH小鼠模型也存

在Treg/Th17失衡,其Treg细胞比例和Treg/Th17比值均低于正常对照小鼠^[32,33]。此外,不同Child-Pugh分级可能对AIH患者的Th17/Treg平衡也有影响^[13],但由于该研究样本量的限制,所得结论也有一定局限性,需进行更深入的研究来证实。

4.2 T细胞亚群异常与PBC 免疫失调是PBC的重要发病机制之一, CD4⁺ T细胞在其中发挥关键作用。与AIH类似, T细胞免疫失调如Th17/Treg比例失衡同样也参与了PBC的疾病进程,在PBC患者的肝脏样本中,尤其是在炎症因子活化期间,汇管区可见大量CD4⁺ T细胞浸润。在患者外周血中可检测到低含量的Treg细胞,且其在汇管区淋巴细胞中也有一定聚集。在IL-2受体 α 缺乏的PBC小鼠模型中可观察到Th17水平升高和Treg细胞比例降低的现象^[34]。因此, IL-2和Th17/Treg很可能是治疗PBC的有效靶点。

有研究对比了PBC小鼠造模前后肝脏血清生物化学指标、肝脏病理变化、肝脏中Th17及Treg细胞的浸润情况,发现与对照组相比, PBC模型小鼠除血清中反映肝损伤的生物化学指标有明显升高及汇管区胆管上皮细胞有明显破坏与增生外,其肝脏中Th17浸润增多,而Treg细胞则相反;研究还发现经过低剂量IL-2处理后的PBC小鼠,上述病理生理变化可得到部分逆转,即Th17/Treg细胞比例可得到有效恢复,肝脏汇管区胆管上皮细胞破坏程度与增生也得到一定改善^[35]。这提示低剂量IL-2很可能是PBC治疗的一个潜在靶点,为临床干预PBC的疾病进展提供了新的思路。目前较为明确的是, CD4⁺ T的两个重要子集,即Th17与Treg细胞在PBC的发病进程中发挥协同又相斥的作用。目前认为, Th17在PBC中的致病作用较为明显^[36],在PBC患者门脉及汇管区可观察到Th17浸润现象。而Treg细胞在PBC的发病机制中可能具有抑制作用,体外过继回输正常的Treg细胞可在一定程度上抑制PBC患者体内的炎症反应^[37],与AIH相似,可达到一定的炎症缓解,这也提示过继回输Treg细胞也可能是治疗PBC的另一有效靶点。

4.3 T细胞亚群异常与PSC T细胞介导的免疫应答在PSC进展中也具有重要作用。在PSC患者的汇管区可观察到大量CD4⁺ T细胞聚集现象,与AIH及PBC类似, Th17/Treg细胞比例失衡也参与了PSC的发病。PSC患者体内Th17/Treg比失调主要表现为Th17增多、Treg细胞比例减少。有研究发现, Treg细胞比例与PSC疾病进展密切相关^[38],且Treg细胞对PSC具有一定的正向效应,这一过程主要与肝内Treg细胞上调表达CD39有关, CD39在一定条件下

可稳定Treg细胞的表型,对其抑制炎症应答具有增强效应。在PSC小鼠模型中,除了反映肝损伤的血清生物化学指标升高外,还观察到Treg细胞凝集的现象,这一过程可能与IL-2RA基因位点有关^[39]。经IL-2/抗IL-2免疫复合物处理的PSC小鼠中,其胆道损伤及肝纤维化较正常小鼠明显减轻,这提示IL-2RA可通过调控Treg细胞的活性来负向调控免疫应答^[39]。这也提示,与PSC类似,低剂量IL-2很有可能也是治疗PSC的新靶点。

4.4 T细胞亚群异常与IgG4-SC及重叠综合征 研究表明,CD4⁺T细胞参与了IgG4-SC的疾病进展,这一过程主要与Th2细胞的激活有关^[40],而Th2细胞的激活可启动Treg细胞应答,刺激Treg细胞分泌大量炎症因子,诱导产生大量IgG4抗体^[41],激发抗原抗体反应,形成抗原抗体复合物,进而对胆道上皮细胞及肝脏细胞造成一定损伤。Th2细胞自身也可分泌一些炎症因子,如IL-4和IL-5,这些炎症因子又可正向调节Th2细胞的增殖,这一机制可级联增加IgG4抗体的产生,进一步加重机体的肝胆炎性打击。当同时具备以上自身免疫性肝病的2种或2种以上类型的临床特点时称为重叠综合征。临床最常见的是PBC-AIH重叠。目前认为有多种机制参与了重叠综合征的发生,具体病因尚未明确,但可确定的是,免疫细胞尤其是CD4⁺T细胞在其中发挥重要作用。PBC-AIH患者兼有PBC和AIH的特点,除由于胆汁淤积造成的肝脏生物化学指标改变外,在肝脏汇管区还可观察到大量淋巴细胞浸润的现象。目前,针对PBC-AIH的治疗主要是采用熊去氧胆酸延缓PBC-AIH的进展,并联合糖皮质激素或其他免疫抑制剂诱导缓解,为接受肝移植治疗争取时间。回输Treg细胞或低剂量注射IL-2在单纯AIH或PBC患者具有一定临床有效性,为重叠综合征的治疗提供了新的思路。然而由于重叠综合征诊断的复杂性,仍需进一步研究。

5 药物治疗进展及展望

综上,多种机制参与自身免疫性肝病的发生与发展,免疫调节缺陷、环境诱发因素、遗传易感性等是该病可能的发病机制。其中免疫失衡是临床研究的焦点,多数自身免疫性肝病患者都存在Th17/Treg失衡现象,而TGF-β在调节Th17/Treg的分化中发挥关键作用(图1)。自身免疫性肝病患者体内Th17比例升高,而Treg细胞比例呈持续性下调趋势,有趣的是,不仅T细胞数量及功能会受到TGF-β信号的影响,而且自身免疫性肝病的活动性也与机体上调细胞免疫特异性转录分子表达有关。

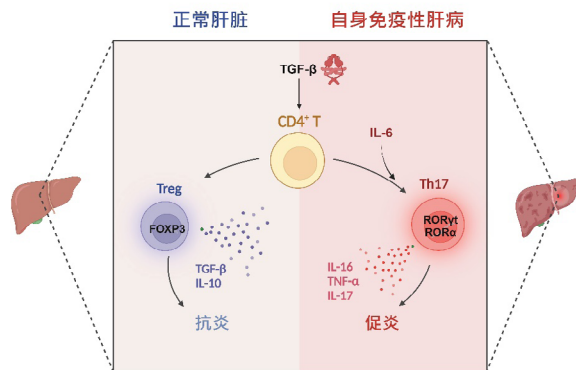


图1 TGF-β通过调节Th17/Treg平衡参与调控自身免疫性肝病

注: TGF-β为转化生长因子β, Treg细胞为调节性T细胞, Th17为辅助性T细胞17, IL-6为白细胞介素6, IL-10为白细胞介素10, IL-16为白细胞介素16, IL-17为白细胞介素17, TNF-α为肿瘤坏死因子α, FOXP3为叉头翼转录因子, RORγt为维甲酸相关孤儿受体γt, RORα为维甲酸相关孤儿受体α。

Treg细胞的抑制性作用与自身免疫性肝病患者的免疫自稳相互关联,因此自体回输Treg细胞可能对治疗自身免疫性肝病有一定正向作用。TGF-β及其下游信号转导分子蛋白可通过各种机制参与自身免疫性肝病的疾病进程,目前已有针对阻断TGF-β信号转导级联的相关临床试验开展。此外,根据Treg细胞可结构性表达IL-2受体,即一种异源三聚体复合物的特点及部分免疫疾病患者缺乏IL-2的特性,低剂量IL-2补充疗法在临床中已应用至各种免疫性疾病如风湿性关节炎、银屑病、强直性脊柱炎等,对患者病情均有一定缓解作用。已有证据表明,外源性补充低剂量IL-2可有效增强Treg细胞的功能,改善Th17/Treg失衡,有效逆转PBC小鼠模型的血清学变化,减轻免疫细胞浸润及肝胆损伤^[35],可提示低剂量IL-2很可能是解决当前PBC治疗困境潜在的有效治疗药物, Th17可能是治疗PBC甚至自身免疫性肝病的另一潜在靶点。但目前关于这些治疗靶点的临床试验支撑尚不充足,且缺乏诱导自身免疫性肝病合适动物模型,仍需进一步研究。

参考文献

- [1] DENG J, YU X Q, WANG P H. Inflammasome activation and Th17 responses[J]. Mol Immunol, 2019, 107: 142-164.
- [2] FONTENOT J D, GAVIN M A, RUDENSKY A Y. Foxp3 programs the development and function of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells[J]. Nat Immunol, 2003, 4(4): 330-336.
- [3] WU B, ZHANG S, GUO Z, et al. The TGF-β superfamily cytokine activin-A is induced during autoimmune neuroinflammation and drives pathogenic Th17 cell differentiation[J]. Immunity, 2021, 54(2): 308-323.e6.
- [4] ARAKELYAN A, NERSISYAN L, POGHOSYAN D, et al. Autoimmunity and autoinflammation: a systems view on signaling pathway dysregulation profiles[J]. PloS One, 2017, 12(11): e0187572.
- [5] LIU Y, YAN W, YUAN W, et al. Treg/Th17 imbalance is associated

- with poor autoimmune hepatitis prognosis[J]. Clin Immunol, 2019,198:79-88.
- [6] SEIF F, KHOSHMRISAFI M, AAZAMI H, et al. The role of JAK-STAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells[J]. Cell Commun Signal, 2017,15(1):23.
- [7] PENG D, FU M, WANG M, et al. Targeting TGF- β signal transduction for fibrosis and cancer therapy[J]. Mol Cancer, 2022,21(1):104.
- [8] XU H, CAI L, LI Z, et al. Dual effect of IL-7/IL-7R signalling on the osteoimmunological system: a potential therapeutic target for rheumatoid arthritis[J]. Immunology, 2021,164(1):161-172.
- [9] KOLIESNIK I O, ANDREAS N, THUY A, et al. Alternative NF- κ B signaling controls peripheral homeostasis and function of regulatory T cells[J]. Immunobiology, 2019,224(5):687-696.
- [10] YANG G, XIA Y, REN W. Glutamine metabolism in Th17/Treg cell fate: applications in Th17 cell-associated diseases[J]. Sci China Life Sci, 2021,64(2):221-233.
- [11] MORIKAWA M, DERYNCK R, MIYAZONO K. TGF- β and the TGF- β family: context-dependent roles in cell and tissue physiology[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2016,8(5):a021873.
- [12] XU F, LIU C, ZHOU D, et al. TGF- β /SMAD pathway and its regulation in hepatic fibrosis[J]. J Histochem Cytochem, 2016,64(3):157-167.
- [13] HAO L R, LI X F, GAO C, et al. Th17/Treg cell level and clinical characteristics of peripheral blood of patients with Sjogren's syndrome complicated with primary biliary cirrhosis[J]. Medicine (Baltimore), 2019,98(24):e15952.
- [14] LOMELÍ-NIETO J A, MUÑOZ-VALLE J F, BAÑOS-HERNÁNDEZ C J, et al. Transforming growth factor beta isoforms and TGF- β R1 and TGF- β R2 expression in systemic sclerosis patients[J]. Clin Exp Med, 2022,23(2):471-481.
- [15] WANG J, ZHAO X, WAN Y Y. Intricacies of TGF- β signaling in Treg and Th17 cell biology[J]. Cell Mol Immunol, 2023,20(9):1002-1022.
- [16] DENG Z, FAN T, XIAO C, et al. TGF- β signaling in health, disease, and therapeutics[J]. Signal Transduct Target Ther, 2024,9(1):61.
- [17] 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.
- [18] MOREAU J M, VELEGRAKI M, BOLYARD C, et al. Transforming growth factor- β 1 in regulatory T cell biology[J]. Sci Immunol, 2022,7(69):eabi4613.
- [19] WANG J, LIU Y, DING H, et al. Mesenchymal stem cell-secreted prostaglandin E₂ ameliorates acute liver failure via attenuation of cell death and regulation of macrophage polarization[J]. Stem Cell Res Ther, 2021,12(1):15.
- [20] CHAUDHRY A, SAMSTEIN ROBERT M, TREUTING P, et al. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation[J]. Immunity, 2011,34(4):566-578.
- [21] MARTINEZ G J, ZHANG Z, REYNOLDS J M, et al. Smad2 positively regulates the generation of Th17 cells[J]. J Biol Chem, 2010,285(38):29039-29043.
- [22] KASHIWAGI I, MORITA R, SCHICHITA T, et al. Smad2 and Smad3 inversely regulate TGF- β autoinduction in clostridium butyricum-activated dendritic cells[J]. Immunity, 2015,43(1):65-79.
- [23] DEES C, PÖTTER S, ZHANG Y, et al. TGF- β -induced epigenetic deregulation of SOCS3 facilitates STAT3 signaling to promote fibrosis[J]. J Clin Invest, 2020,130(5):2347-2363.
- [24] MALHOTRA N, ROBERTSON E, KANG J. SMAD2 is essential for TGF- β -mediated Th17 cell generation[J]. J Biol Chem, 2010,285(38):29044-29048.
- [25] TANAKA S, JIANG Y, MARTINEZ G J, et al. Trim33 mediates the proinflammatory function of Th17 cells[J]. J Exp Med, 2018,215(7):1853-1868.
- [26] ZHANG S, TAKAKU M, ZOU L, et al. Reversing SKI-SMAD4-mediated suppression is essential for T(H)17 cell differentiation[J]. Nature, 2017,551(7678):105-109.
- [27] CHEN H, CAI J, WANG J, et al. Targeting Nestin⁺ hepatic stellate cells ameliorates liver fibrosis by facilitating T β RI degradation[J]. J Hepatol, 2021,74(5):1176-1187.
- [28] GAUBLOMME J T, YOSEF N, LEE Y, et al. Single-cell genomics unveils critical regulators of Th17 cell pathogenicity[J]. Cell, 2015,163(6):1400-1412.
- [29] SAITO A, HORIE M, NAGASE T. TGF- β signaling in lung health and disease[J]. Int J Mol Sci, 2018,19(8):2460.
- [30] MINAGA K, WATANABE T, CHUNG H, et al. Autoimmune hepatitis and IgG4-related disease[J]. World J Gastroenterol, 2019,25(19):2308-2314.
- [31] LEE G R. The balance of Th17 versus Treg cells in autoimmunity[J]. Int J Mol Sci, 2018,19(3):730.
- [32] MÜLLER P, MESSMER M, BAYER M, et al. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) potentiates autoimmune hepatitis in the CYP2D6 mouse model[J]. J Autoimmun, 2016,69:51-58.
- [33] HOLDER B S, GRANT C R, LIBERAL R, et al. Retinoic acid stabilizes antigen-specific regulatory T-cell function in autoimmune hepatitis type 2[J]. J Autoimmun, 2014,53:26-32.
- [34] WAKABAYASHI K, LIAN Z X, MORITOKI Y, et al. IL-2 receptor α ^{-/-} mice and the development of primary biliary cirrhosis[J]. Hepatology, 2006,44(5):1240-1249.
- [35] WANG Z, LIU Z, ZHENG J, et al. The effects of low-dose IL-2 on Th17/Treg cell imbalance in primary biliary cholangitis mouse models[J]. BMC Gastroenterol, 2024,24(1):87.
- [36] NAKAGAWA R, MUROYAMA R, SAEKI C, et al. CD4⁺ T cells from patients with primary biliary cholangitis show T cell activation and differentially expressed T-cell receptor repertoires[J]. Hepatol Res, 2019,49(6):653-662.
- [37] WANG L, SUN Y, ZHANG Z, et al. CXCR5⁺ CD4⁺ T follicular helper cells participate in the pathogenesis of primary biliary cirrhosis[J]. Hepatology, 2015,61(2):627-638.
- [38] DOLD L, KALTHOFF S, FRANK L, et al. STAT activation in regulatory CD4⁺ T cells of patients with primary sclerosing cholangitis[J]. Immun Inflamm Dis, 2024,12(4):e1248.
- [39] TAYLOR A E, CAREY A N, KUDIRA R, et al. Interleukin 2 promotes hepatic regulatory T cell responses and protects from biliary fibrosis in murine sclerosing cholangitis[J]. Hepatology, 2018,68(5):1905-1921.
- [40] ZEN Y, LIBERAL R, NAKANUMA Y, et al. Possible involvement of CCL1-CCR8 interaction in lymphocytic recruitment in IgG4-related sclerosing cholangitis[J]. J Hepatol, 2013,59(5):1059-1064.
- [41] OKAZAKI K, YANAGAWA M, MITSUYAMA T, et al. Recent advances in the concept and pathogenesis of IgG4-related disease in the hepato-bilio-pancreatic system [J]. Gut Liver, 2014,8(5):462-470.

收稿日期: 2024-01-05

沈起艳, 龚作炯. 转换生长因子 β 超家族对自身免疫性肝病中辅助性T细胞17/调节性T细胞平衡的作用[J/CD]. 中国肝脏病杂志(电子版), 2025,17(1): 1-7.