

· 综述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.09.028

滤泡辅助性 T 细胞与炎症性肠病相关的研究进展*

谢彦飞¹, 吕晓丹², 李世权¹, 陈 兰³, 詹灵凌²综述, 吕小平^{1△} 审核

(1. 广西医科大学第一附属医院消化内科, 南宁 530021; 2. 广西医科大学第一附属医院临床医学实验部, 南宁 530021; 3. 广西医科大学第二附属医院消化内科, 南宁 530021)

[摘要] 炎症性肠病的病因及其发病机制尚未完全清楚, 目前大多数研究表明是由多种因素相互作用引起, 主要包括环境改变、遗传易感、细菌及病毒感染和自身免疫等各种因素, 其发病机制主要表现为遗传易感人群在生物、心理、社会等环境因素的影响下, 由肠道多种微生物启动肠道的先天免疫反应及后天获得性免疫反应, 破坏肠黏膜免疫系统, 引起消化道溃疡反复发作、炎性增生坏死等病理生理的改变, 其中肠黏膜异常免疫反应引起的炎性改变在炎症性肠病的发病中起到重要作用。滤泡辅助性 T 细胞的异常表达与自身免疫性疾病密切相关, 滤泡辅助性 T 细胞及其主要细胞因子在炎症性肠病起病及进展的免疫调节过程中发挥了关键作用。

[关键词] 滤泡辅助性 T 细胞; 炎症性肠病; 免疫

[中图分类号] R574

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)09-1239-04

滤泡辅助性 T 细胞(T follicular helper cell, Tfh)是一种新的 CD4⁺T 效应细胞亚群。Tfh 定位于淋巴滤泡, 主要功能是辅助 B 细胞增殖、分化和免疫球蛋白类型的转换, 参与体液免疫。炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类由多种因素共同作用、异常免疫调节、炎性反应持续反复发作的慢性非特异性肠道疾病。目前 IBD 的病因及其发病机制尚未清楚, 一般认为是由环境改变、遗传易感、细菌及病毒感染和自身免疫等各种因素相互作用引起, 其中, 有 Tfh 参与的免疫因素在 IBD 发病机制发挥重要作用。现将近十年来国内外关于 Tfh 与 IBD 相关的研究进展作一综述。

1 IBD 发病机制

IBD 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)。流行病学调查研究显示, IBD 无论是发病率和患病率均正在世界范围内不断增加^[1]。近年来, 该病在亚洲变得越来越普遍。一项临床研究显示, IBD 在亚洲呈逐年增多趋势^[2]。目前认为饮食、吸烟、卫生条件、生活方式等环境因素、遗传倾向和 NOD2/CARD15 基因突变、自身正常肠道菌群参与的异常免疫反应、持续天然免疫反应和 I 型辅助 T 细胞(Th1 细胞)异常激活等因素在 IBD 的发生、发展、转归过程中起到主要作用。

1.1 环境因素 目前认为诸如吸烟、卫生状况、微生物、非甾体类抗炎药、抗生素、饮食、哺乳、地理位置、生活压力和空气污染等多种环境因素与 IBD 有关^[3]。随着工业革命的兴起, IBD 主要为西方国家所认知。自 20 世纪以来, IBD 在加拿大、美国、西欧等发达国家最为流行, 如今在如印度、中国等实现工业化的发展中国家, IBD 的发病率呈上升趋势, 这一疾病谱的变化提示了环境因素所发挥的重要作用。

1.2 遗传因素 自 IBD 遗传基础的研究以来, NOD2 的识别作为一个主要易感基因取得了重大的进步。通过新的基因分型和测序技术已发现 242 个常见的易感基因位点, 其中有 45 个是已精确统计出确切来源的变种, 还确定了 50 个与早期发病的炎症性疾病相关的基因。IBD 不断发展的遗传结构, 通过与重大疾病相关信号通路的鉴别, 有可能为个体化药物治疗表明新的药物靶标或标记, 从而加深了人们对其发病机制的认识^[4]。

1.3 感染因素 肠道菌群的分析研究显示 IBD 的发病机制与肠道微生物组成中的特征性变化有关, 更进一步认为 IBD 是由肠道微生物和黏膜免疫系统的相互作用而引起的^[5]。此外, 有新的研究显示表明, 由于疾病的严重程度和免疫抑制治疗的普及, IBD 患者巨细胞病毒感染的患病率在增加^[6], 副结核分枝杆菌亚群与 CD 及人类免疫相关疾病的发病机制有关^[7]。肠道菌群的失调可能通过增强宿主的促炎症免疫反应在 IBD 的发病机制中发挥作用^[8]。

1.4 免疫因素 免疫因素在 IBD 的发生、发展中起重要作用。肠黏膜免疫系统被破坏, 黏膜通透性增加, 肠道持续暴露于大量抗原中, 诱发肠道免疫系统的过度反应和错误识别, 从而激活巨噬细胞和淋巴细胞, 释放大炎症介质及免疫调节因子, 引起机体的免疫应答, 逐级放大异常免疫反应, 最终引起肠黏膜组织损伤迁延不愈表现为 IBD 的病理改变和临床特征。

2 Tfh 的产生过程和特征性细胞表型及其意义

在初始 T 细胞中有一部分持续表达 CXCR5, 在趋化因子 CXCL13 的趋化作用下, 主要趋化 B 细胞迁移至淋巴样器官和脾脏的 B 细胞滤泡中, 同时表达 ICOS^{hi}、CD40L^{hi} 和分泌白细胞介素(IL)-21, ICOS^{hi} 和 CD40L^{hi} 分别通过与 B 细胞上的 ICOSLG 和 CD40 结合, 刺激 B 细胞的增殖、分化, 参与免疫球蛋白类别的转换, 执行辅助 B 细胞的功能, 成为 Tfh。

Tfh 是定位于淋巴滤泡、主要负责辅助 B 细胞产生抗体并参与调控体液免疫的 CD4⁺T 效应细胞亚群, 它的特征性细胞表型包括有 CD4、CXCR5、ICOS、CD40L 等, 其免疫表型为 CXCR5⁺CD4⁺ICOS⁺, 其中持续表达的 CXCR5 和高水平表达的 ICOS 是 Tfh 膜表面标志的特征性表现。在 CXCL13 的趋化作用下, Tfh 与 B 细胞共定位于淋巴滤泡, 并发生相互作用, CXCR5 为 Tfh 在淋巴滤泡里发生迁移、定位的过程中发挥了至关重要的作用。作为 Tfh 最重要的表面标记物, 结构性高表达的 CXCR5 是 Tfh 区别于其他 CD4⁺T 细胞独有的鉴别标志。ICOS 和其配体 ICOSL 的相互作用对于 Tfh 的产生和维持、生发中心(germinal center, GC)和记忆 B 细胞的形成、T 细胞依赖的抗体产生和免疫球蛋白类型的转换发挥重要作用, 缺乏 ICOS 将会影响 GC 的形成以及 B 细胞的成熟, 从而导致体液免疫缺陷。

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81460114)。 作者简介: 谢彦飞(1987—), 住院医师, 硕士, 主要从事炎症性肠病的研究。

△ 通信作者, E-mail: llxpp5091@sina.com。

3 Tfh 的功能及其主要细胞因子

3.1 Tfh 的功能 Tfh 是一种辅助 B 细胞产生 IgG 和 IgA 等抗体、促进 GC 形成及维持的特殊 T 细胞亚群。Tfh 传递重要信号至 B 细胞可促使免疫球蛋白类别转换和重组、体细胞发生超变异、产生相应的高亲和力抗体、发生免疫记忆、辅助抗原特异性 B 细胞在 GC 中增生及分化为浆细胞或记忆 B 细胞。Tfh 功能缺陷或者亢进必将导致紊乱的免疫状态, Tfh 及相关细胞因子的表达减少会导致正常的 B 细胞反应不能完成, 产生体液免疫缺陷; 相反, Tfh 及相关细胞因子的过度表达也会导致病态的自身免疫反应, 引起过度调控 GC 的形成, 产生异位性 GC, 并促使高亲和力的抗体产生过多或者产生异常的抗体, 诱发自身免疫性疾病、促进慢性自身免疫性炎症。

3.2 Tfh 的主要细胞因子 Tfh 的主要细胞因子包括 CXCR5、CD40L、PD-1、ICOS、IL-21 等。CXCR5 持续高表达于 Tfh 表面; CD40L 参与 B 细胞的增殖、GC 的形成及体液免疫; PD-1 影响 GC 的生成、高亲和力抗体及长寿浆细胞的产生; ICOS 刺激 Tfh 的产生和维持, GC 和记忆 B 细胞的形成、T 细胞依赖抗体的产生及免疫球蛋白类型的转换; IL-21 执行 Tfh 的主要效应功能。

4 Tfh 与 IBD 的关系

4.1 CXCR5 与 IBD 在葡聚硫酸钠 (dextran sulfate sodium, DSS) 诱导的小鼠慢性结肠炎的研究中发现, 在慢性炎症细胞浸润肠黏膜前, OX40/OX40L 诱导 CXCR5 在 CD4⁺ 细胞表达、迁移至 GC 促进 CD4⁺ 细胞的进一步分化是重要的炎症过程。一项研究发现, 在 CD 患者中通过 IL-21 的分泌形成 CD4⁺ CXCR5⁺ T 细胞的循环, 可加剧 B 细胞抗体的产生^[9]。CXCR5 在 UC 患者的不规则淋巴细胞聚集表达, 这有力地表明了 CXCR5 在 IBD 异常淋巴组织的生成中发挥重要作用; 而 CXCR5 作为 Tfh 最重要的表面标记物, CXCR5 及其配体 CXCL13 的相互作用, 使 B 细胞向淋巴器官归巢、B 细胞和 Tfh 定位于淋巴滤泡区、形成 GC、诱导 Tfh 向 GC 迁移、调节体液免疫, 这些功能将为揭示 Tfh 如何在 UC 病变发生、发展的过程发挥其作用提供强有力的理论依据。

4.2 CD40L 与 IBD 早有研究证实了 CD40 在活动性 IBD 的肠上皮细胞中表达。CD40 和 CD40L 在 IBD 肠黏膜中表达增强, CD40/CD40L 信号通路有助于 IBD 肠上皮细胞的促炎作用, 这个信号通路的激活参与了 IBD 的发病机制, 这一系列的病理生理反应活动再一次印证了 Tfh 确实参与到了 IBD 发生、发展的过程中, 并在其中发挥了一定的促进作用。在 IBD 患者和 CD 合并脓肿或瘘的患者中, 通过活化的血小板和肠内 CD40L 功能激活的作用, CD40L 呈高水平的表面表达和释放。目前已证明 CD40 和 CD40L 的相互作用在免疫和非免疫炎症相关细胞中激活各种途径是 IBD 的发病关键。在 CD 患者中, CD40 在炎症黏膜微血管内皮细胞上过度表达, 并且在肠黏膜内发现 CD40⁺ 树突状细胞 (CD40⁺ dendritic cell, CD40⁺ DC) 增多。CD40/CD40L 信号通路可能成为 IBD 治疗的新靶点^[10]。

4.3 PD-1 与 IBD 与健康人相比, PD-1 的受体 PD-L1 在 IBD 患者肠上皮细胞上呈高表达, 这一发现提示了 PD-L1 的重要作用, 即 PD-1/PD-L1 信号通路调节原位黏膜的耐受程度。在 IBD 患者肠上皮细胞和控制供者 T 细胞的炎症细胞反应中, 抗 PD-L1 阻断抗体的增加导致干扰素 (interferon, IFN)- γ 的生成增多。由于炎症细胞反应是由外周血 T 细胞中的 CD4⁺ 和 CD8⁺ 所执行, PD-L1 阻断效应可阻止由肠上皮细胞引起的诱导调节性 T 细胞 (induced regulatory T cells, iTregs) 的增殖, 进而通过效应 T 细胞导致 IFN- γ 生成的增多, 而 IFN-

γ 生成的增多进一步激活抗原提呈细胞, 通过上调转录因子 Tbet 的细胞水平来促进 Th1 细胞的分化, 从而对 PD-1/PD-L1 信号通路进行有效的免疫调节。同时结肠炎的小鼠模型实验也证实了 PD-1 的作用, 即 PD-1/PD-L1 信号通路通过控制调节细胞及已识别的调节性 CD4⁺ CD25⁻ PD-1⁺ T 细胞可以抑制结肠炎的发展。BENDIX 等^[11] 对 40 例 CD 患者每天给予 30 μ g 维生素 D3 和 1 200 mg 钙片, 而作为对照组的 8 名健康人给予同样剂量的安慰剂和钙片, 在 26 周后分离研究对象血浆中的外周血单核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PB-MCs), 用流式细胞仪分析 PD-1、PD-L1 以及表面活化标记的表达, 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 血浆可溶性 PD-1 的水平, 证实了维生素 D 对 CD 患者的治疗通过增加 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的能力, 上调活化反应中的 PD-1 并减少 CD69 的表达。

4.4 ICOS 与 IBD 有研究表明, 在 ICOS 的配体 ICOSL 区域的风险 G 等位基因位点 rs7282490 与增加回肠 CD 的可能性相关^[12]。AIBA 等^[13] 发现在日本人的原发性胆汁性肝硬化 (primary biliary cirrhosis, PBC) 和 CD 的发生、发展中, 肿瘤坏死因子超家族 (tumor necrosis factor super family, TNFSF) 15 和 ICOSL-CXCR5 可能构成一个共同的致病通路, 在这里可以了解到 ICOS 和 CXCR5 在 IBD 的发生、发展过程中起到一个相互协同的作用, 这不失为一个大胆而科学的假设, 为本课题组在今后对 IBD 的发病机制及 Tfh 与 IBD 的相关研究中带来新的认识和研究思路。普通变异型免疫缺陷病 (common variable immunodeficiency, CVID) 的患者具有包括 CD 和 UC 的不同类型 IBD 的临床特征, 比如明显的溃疡性结肠炎^[14]。尽管 CVID 是多基因遗传, 仍有一小部分比例的 CVID 与特定的基因缺陷有关。1 型 CVID 是由 ICOS 诱导 T 细胞基因编码变异引起的^[15]。

4.5 IL-21 与 IBD IL-21 分泌型 Tfh 与 IBD 的发病机制有牵连。在 CD 和 UC 患者的黏膜活检中 IL-21 表达的 CD4⁺ CXCR5⁺ Th 细胞增加^[16-17]。在 IBD 患者肠内的炎症活动中, 通过活化的 CD4⁺ Th 细胞共同表达 IFN- γ 和 Tfh, 产生过多的 IL-21。过量生成的 IL-21 激活大量信号通路, 扩大和维持持续的黏膜炎性反应。研究结果表明, IBD 患者外周血中的 IL-21 主要是通过 IFN- γ 表达的肠固有层 CD4⁺ T 淋巴细胞产生, 进一步强调不同的 T 细胞亚群可分泌 IL-21。有研究证实了, IL-21 的表达在 IBD 患者的肠内上调, 在对抗肿瘤因子易感的 CD 患者中下调^[18-19]。GE 等^[20] 采用 ELISA 和流式细胞术, 检测 UC 患者与对照组中 IL-21、Th17、IFN- γ 的表达, 高表达的 IL-21 与 Th17 细胞可能在 UC 患者的发病机制中发挥的一定作用呈正相关关系。Tfh 在由 DSS 或三硝基苯磺酸 (trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS) 诱导的小鼠结肠炎模型中增多, IL-21 的敲除在这类动物模型中起到保护作用。此外, 在 DSS 小鼠结肠炎模型中 IL-21R/Fc 溶解蛋白的处理使疾病加重^[17]。IL-21 敲除的小鼠在很大程度上可防止结肠炎的发生并减少 Tfh 的渗透及 Tfh 相关细胞因子的产生, IL-21 促进了 UC 的发展, 对 Tfh 在结肠炎微环境中的增殖和分泌起到关键作用^[17]。相关动物实验研究表明, IL-21/IL-21R 信号通路通过抑制 Th1 细胞、活化 Th2 细胞、激发 Th17 细胞和 Treg 细胞的反应可有助于控制小鼠模型中 DSS 诱导的急性结肠炎^[21]。JOSTINS 等^[22] 也证实了 IL-21 的基因多态性与 IBD 有关。上述关于 IL-21 参与到 IBD 发生、发展中的研究让本课题组认识到, IL-21 的作用特点及其作为 Tfh 在 IBD 疾病活动中的关键细胞因子, 在今后关于 IBD 的研究中仍是一大热门和主要的研究方向。

4.6 其他 多项研究表明, Tfh 的异常表达与多种自身免疫性疾病的发生、发展密切相关^[23], 但 Tfh 在 IBD 中的作用机制尚未十分明确。时凤敏等^[24] 通过饮用 DSS 的方法建立 IBD 小鼠模型, 以 CXCR5、ICOS、CD40L 等 Tfh 特异性膜表面分子作为标记, 与对照组相比, 模型组 Tfh 的上述标记分子及 Bcl-6 和 IL-21 表达均明显下降, 提示 Tfh 的比例及功能活性在 DSS-IBD 小鼠模型中均明显下降, Tfh 促进 B 细胞免疫应答及体液免疫反应的功能受到了抑制, Tfh 可能参与了 IBD 的免疫调节过程, 考虑与细胞免疫应答相关的 T 细胞亚群分化增强, 而体液免疫相关的 T 细胞亚群分化减弱是导致 IBD-DSS 体内 Tfh 功能受到抑制有关, 与之前所认知的 Tfh 功能亢进引起病态的自身免疫性炎症反应的理论相左, Tfh 细胞比例及其功能的异常变化在 IBD 发病及其进展中可能起到一定的作用, 需要进一步探讨并证实这其中的奥妙, 这为本研究提供了新的研究方向和热点。一项关于在 CD 和 CD 相关的结直肠癌患者中循环 Tfh 比例的研究发现, 上述患者的循环 Tfh 比例均较对照组有显著增加, 穿透性 CD 的循环 Tfh 比例较炎症性 CD 和狭窄性 CD 患者均高, CD 相关的结直肠癌患者中循环 Tfh 比例较非 CD 相关的结直肠癌患者中循环 Tfh 比例增高^[25]。由此可见, Tfh 在 CD 以及 CD 相关的结直肠癌中也发挥了致病作用。但是, 需要更多的研究来证明 Tfh 在肠内免疫稳态平衡和炎症反应中假定的作用以及和 IBD 患者的关联性。

5 展 望

IBD 是一种多因素参与致病、异常免疫介导的慢性复发性炎症性疾病, 在 IBD 的发生、发展中, 免疫因素的影响起到了关键作用, 根据 Tfh 及其细胞因子在 IBD 中的作用特点, 设想通过抑制 Tfh 的异常表达以及阻断其相关效应分子为研究 IBD 的发病机制及治疗 IBD 提出了新的思路, Tfh 的细胞因子如 CD40L、PD-1、ICOS、IL-21 等将有望成为 IBD 治疗的新靶点。

参考文献

- [1] MOLODECKY N A, SOON I S, RABI D M, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review[J]. *Gastroenterology*, 2012, 142(1): 46-54.
- [2] PRIDEAUX L, KAMM M A, DE CRUZ P P, et al. Inflammatory bowel disease in Asia: a systematic review [J]. *J Gastroenterol Hepatol*, 2012, 27(8): 1266-1280.
- [3] FROLKIS A, DIELEMAN L A, BARKEMA H W, et al. Environment and the inflammatory bowel diseases [J]. *Can J gastroenterol*, 2013, 27(3): e18-e24.
- [4] MIRKOV M U, VERSTOCKT B, CLEYNEN I. Genetics of inflammatory bowel disease; beyond NOD2 [J]. *Lancet Gastroenterol Hepatol*, 2017, 2(3): 224-234.
- [5] KOSTIC A D, XAVIER R J, GEVERS D. The microbiome in inflammatory bowel diseases: current status and the future ahead [J]. *Gastroenterology*, 2014, 146(6): 1489-1499.
- [6] ORMECI A C, AKYUZ F, BARAN B, et al. Steroid-refractory inflammatory bowel disease is a risk factor for CMV infection [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2016, 20(5): 858-865.
- [7] DAVIS W C. On deaf ears, *Mycobacterium avium* paratuberculosis in pathogenesis Crohn's and other diseases [J]. *World J Gastroenterol*, 2015, 21(48): 13411-13417.
- [8] NAGAO K H, SHREINER A B, GILLILLAND M G, et al. Functional characterization of inflammatory bowel disease-associated gut dysbiosis in gnotobiotic mice [J]. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol*, 2016, 2(4): 468-481.
- [9] WANG Z, DING L, WANG Z, et al. Circulating CD4⁺ CXCR5⁺ T cells exacerbate b cell antibody production in Crohn's disease through IL-21 secretion [J]. *Immunol Invest*, 2015, 44(7): 665-677.
- [10] SENHAJI N, KOJOK K, DARIF Y, et al. the contribution of CD40/CD40l axis in inflammatory bowel disease: an update [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 529.
- [11] BENDIX M, GREISEN S, DIGE A, et al. Vitamin D increases programmed death receptor-1 expression in Crohn's disease [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(15): 24177-24186.
- [12] HEDL M, LAHIRI A, NING K, et al. Pattern recognition receptor signaling in human dendritic cells is enhanced by ICOS ligand and modulated by the Crohn's disease ICOSLG risk Allele [J]. *Immunity*, 2014, 40(5): 734-746.
- [13] AIBA Y, YAMAZAKI K, NISHIDA N, et al. Disease susceptibility genes shared by primary biliary cirrhosis and Crohn's disease in the Japanese population [J]. *J Hum Genet*, 2015, 60(9): 525-531.
- [14] RESNICK E S, MOSHIER E L, GODBOID J H, et al. Godbold, et al. Morbidity and mortality in common variable immune deficiency over 4 decades [J]. *Blood*, 2012, 119(7): 1650-1657.
- [15] WARNATZ K, REINHARD E. Voll. Pathogenesis of autoimmunity in common variable immunodeficiency [J]. *Front Immunol*, 2012, 3: 210.
- [16] SARRA M, MONTELEONE I, STOLFI C, et al. Interferon-gamma-expressing cells are a major source of interleukin-21 in inflammatory bowel diseases [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2010, 16(8): 1332-1339.
- [17] YU J, HE S, LIU P, et al. Interleukin 21 promotes the development of ulcerative colitis and regulates the proliferation and secretion of follicular T helper cells in the colitides microenvironment [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(2): 1049-1056.
- [18] YAMAMOTO-FURUSHO J K, MIRANDA-PÉREZ E, FONSECA-CAMARILLO G, et al. Interleukin 21 expression is increased in rectal biopsies from patients with ulcerative colitis [J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2010, 16(7): 1090-1090.
- [19] LIU C, XIA X, WU W, et al. Anti-tumour necrosis factor therapy enhances mucosal healing through down-regulation of interleukin-21 expression and T helper type 17 cell infiltration in Crohn's disease [J]. *Clin Exp Immunol*, 2013, 173(1): 102-111.
- [20] GE J, ZHANG X H, LIU J, et al. Elevated expression of interleukin-21 and its correlation to T-cell subpopulation in patients with ulcerative colitis [J]. *Cent Eur J Immunol*, 2015, 40(3): 331-336.
- [21] WANG Y, JIANG X, ZHU J, et al. IL-21/IL-21R signaling suppresses intestinal inflammation induced by DSS through regulation of Th responses in lamina propria in mice [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 31881.
- [22] JOSTINS L, RIPKE S, WEERSMA R K, et al. Host-mi-

crobe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease[J]. *Nature*, 2012, 491(7422): 119-124.

[23] TANGYE S G, MA C S, BRINK R, et al. The good, the bad and the ugly-TFH cells in human health and disease [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(6): 412-426.

[24] 时凤敏, 周平, 陈国江, 等. 滤泡辅助性 T 细胞 (TFH) 在
· 综 述 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2018.09.029

炎性肠病中的表达研究[J]. *军事医学*, 2011, 35(12): 902-904.

[25] WANG Z, WANG Z, DIAO Y, et al. Circulating follicular helper T cells in Crohn's disease (CD) and CD-associated colorectal cancer[J]. *Tumour Biol*, 2014, 35(9): 9355-9359.

(收稿日期: 2017-10-23 修回日期: 2017-12-07)

CAR-T 技术的作用机制及其在恶性淋巴瘤中的应用*

刘畅¹, 蒋婷¹, 全诗翠¹, 纪青¹综述, 邓飞^{2△}审校

(1. 遵义医学院病理学教研室, 贵州遵义 563000, 2. 南方医科大学深圳医院病理科, 广东深圳 518000)

[摘要] 近年来, 肿瘤的免疫治疗越来越受到人们的重视。在肿瘤的免疫治疗手段中, 以嵌合抗原受体 (CAR) 修饰的 T 细胞疗法为代表的肿瘤靶向免疫治疗的疗效最为肯定。嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 疗法是近年来发展非常迅速的一种新兴的细胞免疫治疗技术, 和以往的免疫治疗手段不同, CAR-T 疗法显示出更灵敏的肿瘤特异性、更加高效的杀伤肿瘤效应及攻击持久性, 在恶性肿瘤, 特别是淋巴造血系统恶性肿瘤的治疗上具有应用潜力和发展前景。本文旨在对 CAR-T 技术的作用机制及其在恶性淋巴瘤中的临床应用做一介绍。

[关键词] 嵌合抗原受体 T 细胞疗法; 嵌合抗原受体 T 细胞疗法; 恶性淋巴瘤

[中图分类号] R733.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2018)09-1242-03

恶性淋巴瘤 (malignant lymphoma, ML) 是我国较为常见的恶性肿瘤之一, 约占所有恶性肿瘤的 3%~4%^[1]。目前, 大多数的 ML 尚不能治愈且复发率及病死率较高, 近年来不断涌现的新的基因治疗及靶向治疗等对 ML 的临床缓解率均有限^[2]。2013 年, 《Science》杂志总结了本年度科学界十大突破性技术, 其中肿瘤的免疫治疗高居榜首^[3]。嵌合抗原受体 T 细胞 (CAR-T) 疗法作为一种特殊的肿瘤免疫治疗方式, 以其独特的优势在恶性肿瘤, 尤其是淋巴造血系统恶性肿瘤的治疗中取得了令人瞩目的成绩。

1 CAR-T 的作用机制

1989 年, GROSS 等^[4]首次提出 CAR-T 细胞的概念, 他们发现 CAR-T 细胞具有显著地增强抗肿瘤的效能, 可以通过不依赖主要组织相容性复合体 (major histocompatibility complex, MHC) 的方式识别任何靶点, 而不仅仅是识别蛋白。从此, CAR-T 技术应运而生。近年来 CAR-T 技术已被广泛地应用于多种恶性肿瘤的临床研究当中, 其中以淋巴造血系统恶性肿瘤的效果最为显著。

1.1 CAR 的基本结构 CAR 由细胞外抗原结合区、铰链区、跨膜区和细胞内信号肽区组成。细胞外抗原结合区通常来源于单克隆抗体的单链抗体 (single-chain variable fragment, scFv), scFv 具有特异性识别并结合肿瘤相关抗原 (tumor associated antigen, TAA) 的功能, 这种单链抗体不需要依赖 MHC 就可直接识别位于肿瘤细胞表面的靶抗原, 从而克服肿瘤的免疫逃逸机制^[5]。其构成是由 TAA 的单克隆抗体的重链可变区和轻链可变区用一条可弯曲的多肽接头连接起来; 铰链区一般为 CD8 α 、TCR β 等免疫球蛋白序列, 其具有变形和伸缩的活性, 为细胞外抗原结合区接近抗原提供条件; 胞内信号肽区通常由共刺激分子 (costimulatory molecule, CM) 和免疫受体酪氨酸活化基序 (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM) 组成, 负责信号传导; 跨膜区是 CD3、CD4、

CD8、CD28 等蛋白分子, 是 CAR 的二聚化和 T 细胞活化的关键区域^[6-7]。

1.2 CAR 的发展历程 目前 CAR 已发展到第 4 代。最初的 CAR 仅含有 ITAM, 只使用 CD3 复合体中的 ζ -链作为唯一的信号域, 这就是所谓的第 1 代 CAR。近年来, 随着研究的深入, 人们发现, 构建的这种第 1 代 CAR 对于 T 细胞的激活是不完整的, 其发挥的抗肿瘤作用有限, 于是有研究者在此基础上在胞内区的信号转导区加入 CM 如 CD28 和或 CD137^[8-9], 可以提升 T 细胞的抗肿瘤持久性和抗肿瘤活性, 因此出现了 2 代和 3 代的 CAR。有研究用第 1 代 CD19⁻ CAR 和第 2 代 CD19⁻ CAR (包含 CD28 共刺激分子) 治疗慢性淋巴细胞白血病 (chronic lymphocytic leukemia, CLL) 和霍奇金淋巴瘤 (Hodgkin lymphoma, HL)^[10], 研究表明 2 代 CAR 比 1 代 CAR 显示了更好的抗肿瘤持久性, 说明了第 2 代和第 3 代 CAR 与第 1 代 CAR 相比, 对于 T 细胞活化更加的完整, 具有更强的攻击效应^[8-11]。但第 3 代 CAR 是否优于第 2 代 CAR, 仍需要进一步验证, 目前进行临床研究的均为 2 代 CAR。

第 4 代 CAR 又称 TRUCKs (fourth-generation CAR T-cells redirected for universal cytokine killing), 结构与前 3 代不同的是其引入了炎症介质 (如 IL-12) 和共刺激配体, 这样能够提升这些改造过的 T 细胞的扩增活性和寿命从而引起更为广泛的抗肿瘤效应^[11-12]。并且, 只要肿瘤细胞表面存在靶抗原, 第 4 代 CAR 就可以充分地降低肿瘤负荷, 在无需预处理的情况下就可以产生抗肿瘤作用, 同时这样也可以使患者免受预处理治疗时发生不良反应^[13]。

1.3 CAR-T 技术的作用原理 CAR-T 技术是利用基因工程技术将 TAA 的特异性识别和 T 淋巴细胞的细胞毒活性相结合, 通过一定途径将编码 CAR 的基因转染到 T 淋巴细胞内, 使这种经基因修饰过的 T 细胞表达特异性的 CAR, 然后在体外扩增、纯化此 T 细胞, 这种 T 细胞就可以通过非 MHC 限制

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81160300)。 作者简介: 刘畅 (1992-), 在读硕士, 主要从事淋巴瘤病理研究。 △ 通信作者, E-mail: mdproffeideng@hotmail.com。