

• 综述 •

γ 型干扰素、调节性 T 细胞与炎症性肠病

王舒蓓 张树贤 孙蕴伟

摘要:炎症性肠病(IBD)是一类病因和发病机制尚未完全明确的肠道疾病,目前认为免疫功能紊乱和免疫耐受异常是导致其发病的主要因素。肠黏膜免疫调节细胞和多种细胞因子参与了 IBD 的免疫反应和炎症过程,此文从炎症细胞因子 γ 型干扰素、调节性 T 细胞的特性及它们在 IBD 中的作用和相互作用等方面简述了该领域的研究进展。

关键词: γ 型干扰素;调节性 T 细胞;炎症性肠病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2011.06.007

炎症性肠病(IBD)包括溃疡性结肠炎(UC)和克罗恩病(CD),其发病机制复杂,至今尚不明确。目前认为环境、遗传、感染和免疫学因素是 IBD 的主要病因,后者在其发病过程中起着至关重要的作用。

研究发现,多种促炎细胞因子和炎症调节因子在 IBD 患者的肠黏膜中表达上调^[1]。 γ 型干扰素(IFN- γ)是一种在炎症反应中常见的细胞因子,其主要生物学效应包括活化巨噬细胞和参与 Th1 型免疫反应的调节等,被认为是 Th1 细胞主导的自身免疫进程的标志性细胞因子^[2]。调节性 T 细胞(Treg)是一类具有免疫抑制作用的 T 细胞亚群,在抑制免疫反应方面扮演着重要角色,其数量减少或功能异常均有可能导致 IBD 和其他自身免疫性疾病的发生。本文对 IFN- γ 和调节性 T 细胞在 IBD 发生发展中的作用作一综述。

1 IFN- γ 的生物学效应及其在 IBD 中的作用

最初干扰素的发现是因病毒感染的细胞能产生一种物质,可干扰另一种病毒的感染和复制而得名。根据来源和理化性质,可将干扰素分为 I 型和 II 型。I 型干扰素包括 IFN- α 、 β ; IFN- γ 属于 II 型干扰素,因为其 T 细胞来源,又被称为“免疫干扰素”^[3]。IFN- γ 由激活的 CD4 Th1 细胞和自然杀伤(NK)细胞等产生。除了抗病毒外,IFN- γ 还具有多种作用,包括调节多种免疫反应、激活巨噬细胞的杀菌能力、通过诱导 MHC I 类和 II 类分子的表达刺激抗原递呈、调节白细胞和内皮细胞间的相互作用、影响细胞增殖和凋亡以及刺激一系列不同功能的基因表达等^[4]。

1.1 IFN- γ 与自身免疫性疾病

IFN- γ 在自身免疫性疾病中扮演着十分复杂的角色。如类风湿性关节炎(RA)、多发性硬化(MS)、IBD、银屑病和狼疮性肾炎等在病变部位均存在活

化的巨噬细胞^[5],其通过分泌 TNF、IL-1 和 IL-6 等细胞因子在病变过程中起着关键作用^[6]。由于 IFN- γ 具有活化巨噬细胞的功能,被认为是值得注意的自身免疫性疾病候选致病因子之一^[5]。通常认为,IFN- γ 是免疫应答的正向调节剂,不仅能直接杀伤肿瘤和病毒感染的细胞,且能通过多种机制上调免疫应答。

近来越来越多的研究表明,IFN- γ 在特定环境下具有抗炎和负向调节免疫应答的作用。研究表明,IFN- $\gamma^{-/-}$ 、IFN- $\gamma R^{-/-}$ 、IL-12R $\beta 2^{-/-}$ 和 IL-12p35 $^{-/-}$ 的小鼠,由于缺乏 IFN- γ -Th1 通路上的重要分子,显示出对炎症自身免疫性疾病的高易感性^[7]。同时实验证明,IFN- γ 在控制炎症性关节炎和实验性变态反应性脑脊髓炎等自身免疫性疾病的慢性炎症所导致的组织损伤中具有十分重要的作用。IFN- γ 还可以通过诱导凋亡的机制来清除激活的 CD4 和 CD8 细胞,在维持 T 细胞稳态方面发挥巨大作用^[8]。

因此,在不同的浓度、部位及疾病状况下,IFN- γ 对自身免疫性疾病的发生具有促进和抑制两方面的作用。

1.2 IFN- γ 与 IBD

IFN- γ 在 IBD 的病程中到底扮演着什么样的角色呢?一般认为 UC 由 Th2 细胞主导,以患者肠道黏膜组织中 IL-5 和 IL-13 的表达增高为特点;而 CD 由 Th1 细胞主导,患者肠道黏膜组织中 IL-12 和 IFN- γ 的表达明显增高,因此 CD 的病程发展与 IFN- γ 的表达关系尤为密切。有研究表明,被 IL-12 和抗 CD3 抗体激活的 T 细胞会分泌大量的 IFN- γ 和 TNF- α ,同时出现明显的肠黏膜组织损伤^[9]。从 CD 患者的肠黏膜固有层分离出的淋巴细胞具有自发分泌 IFN- γ 的能力^[10]。多数研究显示,IBD 患者的病变黏膜中可以观察到 IFN- γ mRNA 的浓度上升,因为 IFN- γ 具有强有力的诱导 HLA 分子表达

的作用,上升的 IFN- γ mRNA 可能解释了从 IBD 患者的病变黏膜上分离的上皮细胞具有高表达 HLA II 类分子的现象。有关结肠炎的动物模型也表明,由三硝基苯磺酸(TNBS)诱发的肠道炎症模型组织中会发生类似于 CD 的特征性病理改变,从中可以检测到 Th1 型细胞因子如 IFN- γ 等表达的增高^[11]。若此时给动物注射抗 IFN- γ 的抗体,则可以阻止结肠炎的发生。另有实验表明,野生型的小鼠在接受葡聚糖硫酸钠(DSS)刺激后肠黏膜组织表现出明显的结肠炎征象,如隐窝消失、黏膜糜烂、溃疡和炎性细胞浸润等,而 IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在给予 DSS 后并未出现结肠炎征象,仅有轻微的上皮损伤^[12]。也有报道观察到 IBD 患者黏膜固有层 IFN- γ mRNA 水平的下降^[13]。但一般认为,IFN- γ 在 IBD 的病程中起着促进炎症发展的作用。

2 调节性 T 细胞的生物学效应及其在 IBD 中的作用

调节性 T 细胞是一类具有免疫抑制作用的 T 细胞亚群,它们不同于效应 T 细胞,通常不对抗原的刺激直接起反应,而是以效应细胞为作用对象,调控后者介导的免疫应答。调节性 T 细胞主要分成两类:自然调节 T 细胞和适应性调节 T 细胞。Treg 细胞具有显著的免疫抑制功能,可以通过抑制 Th1/Th2 细胞来调控肠黏膜因免疫失衡所造成的炎性反应。Treg 细胞的抑制机制可被分为 4 种基本的“行为模式”:通过抑制性细胞因子发挥抑制作用;通过溶解细胞发挥抑制作用;通过中断细胞代谢发挥抑制作用;通过调节树突状细胞(DC)的功能和成熟发挥抑制作用^[14]。一般认为,IBD 患者中并未出现 Treg 细胞的完全缺失,难治性 UC 患者切除下来的结肠肠系膜淋巴结中仍可观察到有功能的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞^[15],但这些细胞的调节能力并不足以下调炎症的发展^[16]。

2.1 自然调节 T 细胞的生物学效应及其在 IBD 中的作用

自然调节 T 细胞(nTreg)的代表为 CD4⁺CD25⁺Treg,它们占人体外周血 CD4⁺细胞的 5%~10%^[17]。其特点包括组成性表达 CTLA4 和 GITR、表达转录因子 Foxp3、功能和发展依赖于 IL-2 等^[18],转录因子 Foxp3 则是迄今为止发现的最具特异性的自然调节 T 细胞的标志^[19]。由于 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞对免疫系统的特殊调节功能,近年来有学者开始探索其与 IBD 发病之间的关系。CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数量的减少、表面分子表达的缺陷、抑制功能的受损,都与 IBD 的发生相关^[20]。实验证明,给严重联合免疫缺陷(SCID)的

小鼠注射 CD4⁺CD25⁻T 细胞可以诱发结肠炎,而同时注射 CD4⁺CD25⁻和 CD4⁺CD25⁺T 细胞则可以避免肠道炎症的发生^[21]。有研究表明,nTreg 细胞与疾病的活动呈负相关,它可以降低 UC 的活动等级^[22]。将 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞转入患有结肠炎的小鼠体内,可以减少固有层炎性细胞的浸润,使肠壁恢复正常的结构,从而起到治疗结肠炎的作用,表明 Treg 细胞具有逆转已经建立的炎症的能力^[23]。

2.2 适应性调节 T 细胞的生物学效应及其在 IBD 中的作用

适应性调节 T 细胞(aTreg)又称诱导性调节 T 细胞(iTreg),它们由初始 T 细胞在某些特定因素刺激下产生,一般不表达 CD25 分子和 Foxp3,分化和发挥功能必须有特定细胞因子的参与。Tr1 和 Th3 是具有普遍意义的适应性调节 T 细胞。

CD4 Tr1 细胞是近年来发现的可调控炎症性自身免疫反应和抑制由 Th1 主导的淋巴细胞增殖及诱导移植耐受的一类抑制性 T 细胞。它同时分泌 IL-10 和 TGF- β ,这两类细胞因子皆以发挥抑制作用见长,因而 Tr1 细胞能够下调免疫活性,主要通过 IL-10 发挥下调免疫反应的能力^[24]。多种研究表明,Tr1 可能参与对肠道菌群的免疫反应的调节,人们已经观察到它们在 IBD 小鼠模型中的保护作用。有人观察到 Tr1 细胞可以显著抑制 SCID 转化模型结肠炎的进展^[25]。有实验证明,分离于 C3H/HeJBir 小鼠的盲肠菌群抗原特异性 Tr1 细胞(BirTr1 细胞)可以阻止 SCID 转化模型中结肠炎的发生^[24]。同时,IL-10 本身就在控制肠道炎性反应的免疫调节机制中扮演着重要角色^[26],缺乏 IL-10 的小鼠品系会自发出现慢性结肠炎,表明其在控制正常菌群免疫反应中的重要性^[16]。

CD4 Th3 细胞通常在口服耐受和黏膜免疫中发挥作用,它存在于人类和小鼠的肠黏膜中^[24],通过 TGF- β 介导产生抑制效应^[27]。CD4 Th3 细胞可以抑制肠道内过度的炎性反应发生。TGF- β 是 Treg 细胞的重要调节因子,敲除了 TGF- β 的小鼠会出现调节性 T 细胞缺乏症,从而导致弥漫性炎症的产生^[28]。在肠道炎症模型中,黏膜内分泌 TGF- β 的 T 细胞显示出具有降低炎性活动度的能力^[16]。曾有研究表明,口服 HCP 诱导黏膜组织中 TGF- β 的分泌可以有力地抑制 TNBS 诱导的结肠炎的产生^[29]。实验表明,肠道内缺乏 TGF- β 会导致 IBD 的发生和进展,维持 TGF- β 信号在调节肠道免疫稳态中起了重要作用^[30]。

近年来也发现多种 CD8⁺调节性 T 细胞(CD8

Treg), 突出者有 CD8⁺ CD28⁻ T 细胞和 Qa-1 限制性 CD8 Treg。CD8⁺ CD28⁻ T 细胞是一类具有抑制自身反应性 CD4⁺ T 细胞的活性,并可抑制同种和异种移植排斥的调节细胞。曾有实验表明自然产生的 CD8⁺ CD28⁻ Treg 细胞可以抑制小鼠中的实验性结肠炎,提示这些细胞可能在控制黏膜免疫中发挥了重要作用^[31]。Qa-1 限制性 CD8 Treg 细胞参与自身免疫性疾病的发生,并在外周免疫调节中发挥作用,但尚缺乏与 IBD 直接相关的研究。

3 IFN- γ 、调节性 T 细胞的相互作用以及对 IBD 发生发展的影响

3.1 IFN- γ 与调节性 T 细胞的相互作用

Treg 细胞和 IFN- γ 在不同实验体系中有不同作用,其相互之间的反应相当复杂。IFN- γ 诱导 STAT1 的活化对 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞的功能和发展具有重要意义^[32]。在某些环境中,IFN- γ 可以增强诱导性 Treg 细胞的功能,控制免疫反应的强度,有研究表明体内早期 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞需要分泌 IFN- γ 以产生功能活性^[33]。Tr1 细胞也可产生 IFN- γ ,分泌水平较 Th1 细胞低^[24]。大量 IFN- γ 会聚集在炎症部位,触发诱导 Treg 细胞中 Foxp3 的表达和 Treg 细胞调节能力的增强^[34]。在 II 型胶原诱导自身免疫性关节炎的实验中,Treg 细胞的免疫抑制能力在 IFN- γ 受体基因敲除的小鼠出现了明显的下降,提示 IFN- γ 可能具有上调 Treg 细胞活性的作用^[35]。也有研究认为,同种抗原反应性 Treg 细胞早期 IFN- γ 基因的瞬时表达可以通过抑制幼稚同种异体 T 细胞活化和增殖,或通过控制同种异体效应机制的启动来防止移植排斥反应^[32]。

但也有许多与上述结论不一致的报道出现。实验表明,自身抗原免疫后的 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞的生成和活化可以被 IFN- γ 所抑制。肿瘤疫苗结构中结合的 IFN- γ ,可能是其避免自身抗原相关性 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞产生和活化的潜在危险发生的关键因子^[36]。也有文献报道,IL-10 可以抑制 Th1 细胞和 NK 细胞产生 IFN- γ 的能力,从而抑制细胞调节免疫反应的进展^[37]。实验表明,CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞可以通过细胞接触在转录水平抑制 CD8⁺ 细胞的 IFN- γ 、颗粒酶 B、穿孔素等细胞因子的分泌,损伤其细胞毒作用^[38]。同时有研究发现,CD8⁺ CD28⁻ Treg 细胞可以在体外抑制 CD4⁺ 效应细胞的增生和其分泌 IFN- γ 的能力^[31]。

3.2 IFN- γ 、调节性 T 细胞的相互作用对 IBD 的发生发展的影响

IFN- γ 作为 Th1 细胞相关的细胞因子,在免疫相关疾病发生发展中的致病作用一直都有详细论

述。研究显示,自身反应性 T 细胞 CD4⁺ CD45RB^{high} 能在 SCID 小鼠中引发高频率的结肠炎,同时加入 CD4⁺ CD45RB^{low} 抑制性 T 细胞(Tr1)或加入抗 IFN- γ 单抗,疾病完全消失,表明该自身免疫性疾病由分泌 IFN- γ 的 Th1 细胞介导,且可被 Tr1 细胞所抑制。另有实验表明,CD8⁺ CD28⁻ Treg 细胞在体外具有抑制 IFN- γ 产生的作用,可以阻止实验诱导的 IBD 的发生^[39]。但是,目前尚缺乏 IFN- γ 与 Treg 细胞在 IBD 患者中相互作用的直接研究证据。

4 展望

目前普遍认为,IBD 是由于有缺陷的黏膜免疫系统对正常菌群和其他腔内抗原不恰当的反应所致^[40]。免疫细胞及细胞因子的功能紊乱、数量改变或调节上的异常,均可造成肠黏膜的炎症及组织损伤,但是它们之间的相互关系以及相互间作用的机制尚有待进一步研究。随着基础和临床研究的逐渐深入,IFN- γ 等细胞因子、Treg 等参与免疫调节的细胞的功能和特征以及 IFN- γ 与 Treg 相互作用机制等将越来越清晰地展现在我们眼前,从而对今后有效提高 IBD 的临床诊治提供有用的参考。

参 考 文 献

- 1 Konstantinos AP, Stephan RT. Role of cytokines in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Annu Rev Med*, 2000, 51: 289-298.
- 2 Kelchtermans H, Billiau A, Matthys P. How interferon-gamma keeps autoimmune diseases in check. *Trends Immunol*, 2008, 29: 479-486.
- 3 Meager A. Biological assays for interferons. *J Immunol Methods*, 2002, 261: 21-36.
- 4 Boehm U, Klamp T, Groot M, et al. Cellular responses to interferon- γ . *Annu Rev Immunol*, 1997, 15: 749-795.
- 5 Hu X, Ivashkiv LB. Cross-regulation of signaling pathways by interferon-gamma: implications for immune responses and autoimmune diseases. *Immunity*, 2009, 31: 539-550.
- 6 Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 958-969.
- 7 Langrish CL, Chen Y, Blumenschein WM, et al. IL-23 drives a pathogenic T cell population that induces autoimmune inflammation. *J Exp Med*, 2005, 201: 233-240.
- 8 Yang YG, Wang H, Asavaroengchai W. Role of interferon-gamma in GVHD and GVL. *Cell Mol Immunol*, 2005, 2: 323-329.
- 9 Fuss IJ, Becker C, Yang Z, et al. Both IL-12p70 and IL-23 are synthesized during active Crohn's disease and are down-regulated by treatment with anti-IL-12 p40 monoclonal antibody. *Inflamm Bowel Dis*, 2006, 12: 9-15.
- 10 Fais S, Capobianchi MR, Pallone F, et al. Spontaneous release of interferon gamma by intestinal lamina propria lymphocytes in

- Crohn's disease. Kinetics of in vitro response to interferon gamma inducers. *Gut*, 1991, 32: 403-407.
- 11 Nakase H, Okazaki K, Tabata Y, et al. An oral drug delivery system targeting immune-regulating cells ameliorates mucosal injury in trinitrobenzene sulfonic acid-induced colitis. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 297: 1122-1128.
- 12 Ito R, Shin-Ya M, Kishida T, et al. Interferon-gamma is causatively involved in experimental inflammatory bowel disease in mice. *Clin Exp Immunol*, 2006, 146: 330-338.
- 13 Niessner M, Volk BA. Altered Th1/Th2 cytokine profiles in the intestinal mucosa of patients with inflammatory bowel disease as assessed by quantitative reversed transcribed polymerase chain reaction (RT-PCR). *Clin Exp Immunol*, 1995, 101: 428-435.
- 14 Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 523-532.
- 15 Yu QT, Saruta M, Avanesyan A, et al. Expression and functional characterization of FOXP3⁺ CD4⁺ regulatory T cells in ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis*, 2007, 13: 191-199.
- 16 Huibregtse IL, van Lent AU, van Deventer SJH. Immunopathogenesis of IBD: insufficient suppressor function in the gut? *Gut*, 2007, 56: 584-592.
- 17 Sakaguchi S. Naturally arising CD4⁺ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22: 531-562.
- 18 Betts GJ, Clarke SL, Richards HE, et al. Regulating the immune response to tumours. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2006, 58: 948-961.
- 19 Fontenot JD, Rudensky AY. A well adapted regulatory contrivance: regulatory T cell development and the forkhead family transcription factor Foxp3. *Nat Immunol*, 2005, 6: 331-337.
- 20 Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, et al. Peripheral and intestinal regulatory CD4⁺ CD25(high) T cells in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*, 2005, 128: 1868-1878.
- 21 Beissert S, Schwarz A, Schwarz T. Regulatory T cells. *J Invest Dermatol*, 2006, 126: 15-24.
- 22 Takahashi M, Nakamura K, Honda K, et al. An inverse correlation of human peripheral blood regulatory T cell frequency with the disease activity of ulcerative colitis. *Dig Dis Sci*, 2006, 51: 677-686.
- 23 Mottet C, Uhlig HH, Powrie F. Cutting edge: Cure of colitis by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells. *J Immunol*, 2003, 170: 3939-3943.
- 24 Allez M, Mayer L. Regulatory T cells peace keepers in the gut. *Inflamm Bowel Dis*, 2004, 10: 666-676.
- 25 Groux H, O'Garra A, Bigler M, et al. A CD4⁺ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature*, 1997, 389: 737-742.
- 26 Groux HF, Powrie. Regulatory T cells and inflammatory bowel disease. *Immunol*, 1999, 20: 442-445.
- 27 Asseman C, Mauze S, Leach MW, et al. An essential role for interleukin 10 in the function of regulatory T cells that inhibit intestinal inflammation. *J Exp Med*, 1999, 190: 995-1003.
- 28 Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, et al. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev*, 2005, 206: 260-276.
- 29 Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, et al. Experimental granulomatous colitis in mice is abrogated by induction of TGF-beta-mediated oral tolerance. *J Exp Med*, 1996, 183: 2605-2616.
- 30 Hahn KB, Im YH, Parks TW, et al. Loss of transforming growth factor p signalling in the intestine contributes to tissue injury in inflammatory bowel disease. *Cut*, 2001, 49: 190-198.
- 31 Menager-Marcq IN, Pomie CI, Romagnoli PA, et al. CD8⁺ CD28⁻ regulatory T lymphocytes prevent experimental inflammatory bowel disease in mice. *Gastroenterology*, 2006, 131: 1775-1785.
- 32 Sawitzki B, Kingsley CI, Oliveira V. IFN-gamma production by alloantigen-reactive regulatory T cells is important for their regulatory function in vivo. *J Exp Med*, 2005, 201: 1925-1935.
- 33 Kathryn J. Wood and Birgit Sawitzki. Interferon γ : a crucial role in the function of induced regulatory T cells in vivo. *TRENDS in Immunology*, 2006, 27: 183-187.
- 34 Wang Z, Hong J, Sun W, et al. Role of IFN- γ in induction of Foxp3 and conversion of CD4⁺ CD25⁻ T cells to CD4⁺ Tregs. *J Clin Invest*, 2006, 116: 2434-2441.
- 35 Kelchtermans H, De Klerck B, Mitera T. Defective CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cell functioning in collageninduced arthritis: an important factor in pathogenesis, counter-regulated by endogenous IFN-gamma. *Arthritis Res Ther*, 2005, 7: 402-415.
- 36 Nishikawa H, Kato T, Tawara I. IFN-gamma controls the generation/activation of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in antitumor immune response. *J Immunol*, 2005, 175: 4433-4440.
- 37 Farrar MA, Schreiber RD. The molecular cell biology of interferon- γ and its receptor. *Annu Rev Immunol*, 1993, 11: 571-611.
- 38 Camara NO, Seville F, Lechler RI. Human CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells have marked and sustained effects on CD8⁺ T cells activation. *Eur J Immunol*, 2003, 33: 3473-3483.
- 39 Menager-Marcq IN, Pomie CI, Romagnoli PA, et al. CD8⁺ CD28⁻ regulatory T lymphocytes prevent experimental inflammatory bowel disease in mice. *Gastroenterology*, 2006, 131: 1775-1785.
- 40 Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet*, 2007, 369: 1627-1640.

(收稿日期:2011-07-01)

(本文编辑:周骏)