

## · 综述 ·

## 辅助性 T 细胞亚群 (Th1/Th2) 失调与结核病

崔言刚\* 王英年\*\* 张克佳\*\*

随着分子生物学和免疫学的发展,对辅助性 T 细胞 (Helper T cell, Th) 亚群研究正日益深入,人们发现 Th 细胞亚群与结核病的发生及机体的免疫有密切关系。本文将这方面的研究成果综述如下。

## 一、Th 细胞的分化与功能

## 1. Th 细胞的发现与分化

早期的动物模型, T 淋巴细胞 (T Lymphocytes, TL) 依其膜表面抗原的差异而分为 CD4 的辅助性 T 细胞 (Th) 和 CD8 的抑制性 T 细胞 (Ts) 或细胞毒性 T 细胞 (CTL)。1986 年 Mosmann 等<sup>[1]</sup>发现,以分泌的细胞因子不同可将小鼠 Th 细胞分为两个不同的亚群, Th1 和 Th2: Th1 细胞产生白细胞介素 2 (IL-2)、干扰素 (IFN)  $\gamma$  和  $\beta$ , 不产生 IL-4 或 IL-5。Th2 细胞产生 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10, 不产生 IL-2 或 IFN- $\gamma$ 。1991 年 Romagnani<sup>[2]</sup>发现人类 Th 细胞同样存在 Th1 和 Th2 亚群。Swain 等<sup>[3]</sup>研究表明, Th1 和 Th2 是由同一 Th 前体细胞群分化而来, 该前体细胞可能属于尚未接受抗原刺激的静止 Th 细胞, 被命名为 Th0 细胞<sup>[4]</sup>, 它们分泌细胞因子无亚群特征, 既产生 IL-2, 又分泌 IL-4, 其功能尚不清。Th0 细胞在不同的抗原、细胞因子及抗原递呈细胞等因素作用下, 向 Th1 或 Th2 转化, Th1 与 Th2 之间也可以相互转化, 这被称为“克隆转换”。

## 2. Th1 和 Th2 细胞在机体免疫中的作用

Th1 和 Th2 细胞在机体免疫和疾病发生中所起的作用截然不同。Th1 细胞有效的刺激细胞免疫, 对胞内寄生菌的感染有一定保护作用, 在介导迟发性变态反应中也发挥重要作用。在结核杆菌诱发的皮肤局部反应中, 人们用原位杂交方法观察到 Th1 细胞的 IL-2、IFN- $\gamma$  mRNA 高表达及 IL-2 和 IFN- $\gamma$  分泌增多。Kobagash 等<sup>[5]</sup>用鸟分枝杆菌感染的鼠模型做实验, 发现易感型 BALB/C 小鼠表现 IL-12 及干扰素诱生因子 (IGIF) 的低表达, 同时有 IFN- $\gamma$  为主的 Th1 应答低下, 相反地, 抵抗型 DBA/2 小鼠表现 IL-12、IGIF 及 IFN- $\gamma$  的高表达。Sanchez 等<sup>[6]</sup>观察 45 例肺结核患者与 16 例健康者外周血单个核细胞 (PBMC) 水平细胞因子的变化, 发现 45 例结核病患者的淋巴细胞经 PPD 刺激, 其增殖能力明显低下, 外周血中 IL-2、IFN- $\gamma$  低表达,

而健康者淋巴细胞增殖能力明显强于结核患者, 外周血 Th1 型细胞因子也高于结核患者。

Th2 细胞刺激体液免疫, 分泌的 IL-4 能促进 B 细胞的增殖和诱导抗体的产生, 尤其是 IgE 的产生; 分泌的 IL-4、IL-5 分别诱导肥大细胞及嗜酸性粒细胞的分化增殖。Th2 细胞主要与过敏性疾病有关<sup>[7]</sup>, 如过敏性皮炎、过敏性哮喘等。在人喘息性支气管炎的支气管肺泡灌洗液 (BAL) 中, T 细胞分泌的细胞因子多属于 Th2。

## 二、Th 细胞亚群失调与结核病

在利什曼原虫感染的鼠模型中, 大多数品系的小鼠在感染利什曼原虫后能诱发强烈的细胞免疫应答, 但 BALB/c 鼠无此抵抗力, 可导致致死感染, 究其原因, 发现 BALB/c 鼠体内表现为 Th2 细胞免疫应答, IL-4、IL-5 表达量明显增高。此后, 人们相继发现, 艾滋病、移植排斥反应、自身免疫性疾病、变态反应、结核病等疾病都存在 Th1/Th2 细胞因子的转化。Zhang 等<sup>[8]</sup>对结核病患者外周血单个核细胞和 CD4 水平分别检测细胞因子的变化, 发现 Th1 型细胞因子低下, Th2 型细胞因子未见差异, 推测结核病的迁延不愈可能与 Th1 细胞反应低下有关, 而不是 Th2 细胞功能增强的缘故。成功的抗结核治疗后, Th1 细胞低反应性随之消失。Lin 等<sup>[9]</sup>及 Azouaou 等<sup>[10]</sup>的研究均发现结核病人 Th1 低下, 未见 Th2 细胞应答增强。对此, Lin<sup>[9]</sup>认为可能是实验条件灵敏度不够, Zhang<sup>[8]</sup>也认为可能是 IL-2 与 IL-4 在培养细胞时部分被利用, 应用一般免疫学方法难以检测。他们应用逆转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 方法分析外周血单个核细胞水平细胞因子的 mRNA 的表达, 结果发现: Th1 细胞因子表达低下, Th2 细胞因子表达正常。但 Surcel 等<sup>[11]</sup>从活动性肺结核患者和健康人中分离外周血单个核细胞, 发现他们的 IFN- $\gamma$  分泌细胞 (Th1 样细胞) 数量无显著差别, 而结核患者 IL-4 分泌细胞 (Th2 样细胞) 数量增多, IL-4 分泌增加。此结

\* 青岛大学医学院第二附属医院研究生 266042

\*\* 青岛大学医学院二附院结核、肺病研究所

果与众学者的研究结果不尽一致,对此,Zhang<sup>[8]</sup>认为,因为完全纯化的 T 细胞不易得到,可能由于自然杀伤细胞(NK 细胞)分泌的 IFN- $\gamma$  影响了实验结果。而有人则认为这是结核患者处于不同时期的缘故。Azouaou<sup>[10]</sup>最近的研究结果显示,感染结核菌后机体的 Th1/Th2 细胞免疫应答与疾病的不同时期有关,发病初期的 2 周内,机体表现 Th1 细胞免疫应答,IFN- $\gamma$  在第 2 周达到最高值,随后 IFN- $\gamma$  逐渐下降,机体表现 Th2 细胞免疫应答,这是否能解释上述不同的结果,还有待进一步研究探讨。

Th1 细胞免疫应答低下是结核病的免疫学特征,已为大多数学者所认可。但 Lin<sup>[9]</sup>等提出疑问,是否发病部位有 Th2 细胞的高表达,他应用 RT-PCR 方法,检测 20 例结核性淋巴结炎患者淋巴结内细胞因子的 mRNA 的表达,发现 IL-4 mRNA 低表达,而 IFN- $\gamma$  高表达,说明在结核发病部位 Th1 应答占优势,这与 Barnes<sup>[12]</sup>等发现结核性胸腔积液中以 Th1 型细胞因子为主基本一致。显然这与外周血单个核细胞(PBMC)水平的细胞因子不同,对此,Barnes 认为外周血细胞因子不能真实反应体内的变化,结核发病部位的细胞因子的变化可能更为重要。结合其它学者的实验结果,Barnes 认为发病部位 Th1 细胞介导保护性应答。相反, Lin<sup>[9]</sup>则认为,发病局部的高 IFN- $\gamma$  表达其免疫病理作用强于保护作用,并推测外周血 T 细胞所产生的细胞因子的保护性作用可能比聚集在发病部位的细胞因子的保护作用更强,这有待于更多的研究证实。

无论在外周血还是在发病部位,结核病患者都存在 Th1/Th2 细胞免疫应答的失调。人们还发现,结核患者病理损害程度不同,细胞因子变化亦不同。Dlugoritzky 等<sup>[13]</sup>观察 29 例初治肺结核病人,轻度 10 例,中度 5 例,重度 14 例,应用酶联免疫吸附实验(ELISA 实验)检测 PBMC 水平细胞因子的变化,发现轻度及中度病人的 IFN- $\gamma$  及 IL-2 明显高于重度病人,而中度及重度病人的 IL-4 高于轻度病人,这是因为轻度病人有持续的细胞免疫应答,而重度病人细胞免疫严重低下。

结核病的慢性化可能与 Th1/Th2 细胞的免疫应答失调也有关系。徐纪茹等应用胸腺细胞增殖法检测 IL-2,发现Ⅲ型肺结核患者发病时间超过 3 年的明显低于发病时间短于 3 年者。Brown 等<sup>[14]</sup>认为急性期缺少有效的保护性免疫和迟发型变态反应的高度表达是结核病慢性化的原因,难治慢性结核病人 TNF- $\alpha$  表达下降,可能与慢性化有关。Orme 认为三个方面的原因和结核感染慢性化相关:(1)结核菌逃逸至胞浆、Th2 细胞类细胞因子的产生等主动和被动的因素,部分致病菌

逃脱了保护性免疫作用;(2)大量耐药菌的产生;(3)年龄、营养缺乏、免疫抑制、HIV 感染等其它原因可导致结核复燃。

为什么结核感染者会发生 Th1-Th2 平衡向 Th2 细胞优势转变? Rook<sup>[15]</sup>提出可能与病人内分泌的变化有关:病人巨噬细胞被活化后,1 $\alpha$ 羟化酶活跃,将维生素 D<sub>3</sub> 前体 25(OH)D<sub>3</sub> 迅速转化为 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>,它漏入外周血中而抑制 T 细胞产生 IFN- $\gamma$  和 IL-2,并增加 IL-4、IL-5 的产生。同时由于病人肾功能降低,各种必需的类固醇特别是硫酸脱氢表雄酮(DHEA-S)低下或缺乏,而脱氢 DHEA 作为糖皮质激素拮抗剂,能增加 Th1 活性,并抑制糖皮质激素的作用。DHEA 的长期缺乏,可能会使 T 细胞受糖皮质激素影响易向 Th2 应答转变。

### 三、影响结核 Th1/Th2 不同分化的因素及其意义

研究发现,Th0 在抗原刺激后向 Th1 或 Th2 分化,要受到下列因素影响:

(1)遗传背景 结核病敏感性和个体的遗传背景有关。感染人群中仅少数个体发展成临床结核病,并呈现出最终归宿上的个体差异,多基因参与了机体的敏感性。小鼠研究发现,编码巨噬细胞活性蛋白 Nrpap 基因,对机体敏感性起关键作用。Levin 等<sup>[16]</sup>发现,在非洲和欧洲儿童中,鉴定到 IFN- $\gamma$  受体 1 编码基因缺乏,Th1 分化低下,其巨噬细胞呈非活化状态,对结核菌易感,在化疗下病情仍快速进展。

(2)抗原的特性与剂量的不同 Pearlman 等<sup>[17]</sup>研究发现,不同的抗原诱导 Th 向不同的方向分化:丝虫抗原 BmA 诱导 Th 向 Th2 分化,而结核分枝杆菌抗原制剂 PPD 诱导 Th 向 Th1 分化。Azouaou<sup>[10]</sup>研究发现,抗原的分子量也影响 Th 的分化,分子量 65 000MW 及 60 000MW 的鸟分枝杆菌抗原的制剂诱导 Th 向 Th2 分化,而 33 000MW、45 000MW 及 27 000MW 的相同制剂则诱导 Th 向 Th1 分化,为研制抗结核菌感染的 Th1 优势分化的抗原疫苗提供了有利线索。此外,疫苗对 Th 细胞活性的诱导不仅取决于抗原,更取决于佐剂,Lindblad 等<sup>[10]</sup>发现 DDA、IFA 等诱导 Th1 型应答的佐剂才能产生有效的细胞免疫应答,而铝佐剂诱导 Th2 应答反而增加机体对结核菌的敏感性。

(3)抗原递呈细胞的特性 不同的抗原递呈细胞可能优势提呈不同抗原给 Th0,使其向 Th1 或 Th2 分化。Gajewski 等<sup>[19]</sup>提出巨噬细胞优先提呈 Th0 向 Th1 转化,而 B 细胞更倾向于提呈 Th0 向 Th2 转化。实验证明少量 B 细胞递呈抗原给 Th2 细胞比给 Th1 细胞效率更高,可能 B 细胞缺乏产生 Th1 细胞激活所需要的

共同刺激因子的能力。巨噬细胞产生 IL-1, IL-1 是 Th2 细胞的共同刺激因子, 因此巨噬细胞通过 IL-1 调节 Th 细胞分化。

(4) 细胞因子的作用 抗原递呈细胞和/或其它免疫细胞在抗原提呈时释放的细胞因子对 CD4 克隆成熟和分化有重要影响。首先, Th1 和 Th2 细胞分别利用 IL-2、IL-4 作为它们的自分泌生长因子。其次是调节分化, 在小鼠中最清楚的因子为 IFN- $\gamma$  和 IL-4。Swain<sup>[20]</sup>发现 CD4 细胞克隆培养中加入 IFN- $\gamma$  时, 优先得到 Th1 克隆, 相反加入 IL-4 得到的为 Th2 克隆, 抑制 Th1 克隆。Romagnani<sup>[17]</sup>在人类实验研究发现, IFN- $\gamma$  能使变应原特异的 T 细胞克隆分化成 Th0 或 Th1 克隆。诱导 Th0 向 Th2 分化的因子为 IL-4, Th2 细胞产生的 IL-4 形成一个自身刺激的正反馈。给利什曼原虫感染的小鼠单独使用 IFN- $\gamma$  或抗 IL-4 单抗, 引起 Th1 高度活化和 Th2 活性的抑制, 增强细胞免疫反应, 从而利于疾病的缓解。

IL-12 称为自然杀伤细胞刺激因子, 由巨噬细胞及树突状细胞分泌的一类细胞因子, 在 Th1/Th2 细胞的分化中发挥“总开关”的作用。IL-12 在体内和体外都是 IFN- $\gamma$  的强诱导剂。胞内菌和病毒能诱导 Th0 向 Th1 分化, 部分原因是通过诱导 IL-12, 刺激 NK 细胞生长和分泌 IFN- $\gamma$ , 并且干扰 IL-4 产生, 最终促使向 Th1 分化。Chensue 等<sup>[21]</sup>在研究小鼠结核肉芽肿发现, 外源性 IL-12 能够促进 IFN- $\gamma$  的产生, 抑制 Th2 类细胞因子的产生。所以, 在结核病的免疫治疗中, 是否可考虑应用 IFN- $\gamma$ 、IL-2 及 IL-12, 以促进 Th0 向 Th1 的转化, 值得进一步研究。

在 Th 细胞和 NK 细胞表面存在高亲和力的 IL-12 受体(IL-12R), Rogge 等<sup>[22]</sup>认为 IL-12 在 Th1/Th2 分化及免疫应答中的作用与 IL-12R 的选择性表达有关: 在由 Th0 向 Th1/Th2 分化过程中, Th1 细胞表面表达 IL-12R  $\beta$ 2 链, 而 Th2 细胞表面无 IL-12R  $\beta$ 2 链表达。Himmelrich 等<sup>[23]</sup>对利什曼原虫感染的小鼠研究发现, 易感型 BALB/c 小鼠产生大量 IL-4, 使 IL-12 对 Th 细胞无反应, 主要是由于细胞表面 IL-12R  $\beta$ 2 链的表达下调, 相反在抵抗型 C57BL/6 小鼠 Th1 细胞表面 IL-12R  $\beta$ 2 链高表达; 用 IFN- $\gamma$  治疗 BALB/c 小鼠, Th1 细胞表面 IL-12R  $\beta$ 2 链 mRNA 表达增加。IL-12R  $\beta$ 2 链的选择性表达的机理目前尚不清楚, Igarashi 等<sup>[24]</sup>认为可能与抗原的特异性及共刺激因子(B7-2)有关, 有待进一步研究。最近 Xu 等<sup>[25]</sup>研究指出 IL-18 诱导 IFN- $\gamma$  的生成, 维持 Th1 细胞表面 IL-12R  $\beta$ 2 链的表达; IL-18R 选择性地 Th1 细胞表达, 并指出 IL

-18R 通过 IL-12R 促进 Th1 的分化。IL-12R  $\beta$ 2 链和 IL-18R 在 Th1 细胞表达的选择性表达, 为免疫治疗提供了又一途径。

#### 四、结语

Th 细胞亚群是一个综合的免疫指标, 对评估机体免疫平衡状态和整体的免疫能力, 有很好的临床应用性。结核病的发生、发展与 Th 细胞亚群的失调有密切关系, 对这一问题的深入研究将有助于在抗结核治疗中引入新的特异性免疫治疗。人为的改变或恢复 Th1/Th2 平衡, 应用 IL-12、IFN- $\gamma$  或 IL-2 治疗 AIDS, 已显示出良好的应用前途, 相信对结核病的免疫治疗也会开拓新途径。此外, 对影响 Th 细胞分化的不同因素的研究, 有助于开发有利于 Th1 优势分化的疫苗, 有助于结核病的预防, 促进结核病防治的基础研究。但我们也应认识到, 结核病的免疫学发病机理非常复杂, 对细胞因子的作用尚未彻底明了, 对免疫病理反应尚未达到监控和定向调节的目的。相信随着研究的深入, 在结核病的免疫病理损伤机理探讨中, 在临床诊断、预后判断及预防和治疗中, 发挥重要作用。

#### 参 考 文 献

- 1 Mosmann TR, Chewinski H, Bond MW, et al. Two types of murine T helper cell clone: definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol*, 1986, 136:2348-2357.
- 2 Romagnani S. Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more. *Immunol Today*, 1991, 12(8):256-257.
- 3 Swain SL, Weinberg AD, English M, et al. CD4 T cell subsets lymphokine secretion of memory cells and of effector cells that develop from precursors in vitro. *J Immunol*, 1990, 144(5):1788-1799.
- 4 Salgame P. Differing lymphokine profiles of functional subsets of human CD4 and CD8 T cell clones. *Science*, 1991, 254:279-281.
- 5 Kobagashi K, Nakata N, Kai M, et al. Decreased expression of cytokines that induce type 1 helper T cell/interferon- $\gamma$  responses in genetically susceptible mice infected with *Mycobacterium avium*. *Clin Immunol Immunopathol*, 1997, 85(1):112-116.
- 6 Sanchez FO, Jaime I, Rodriguez, et al. Immune responsiveness and Lymphokine production in patients with tuberculosis and healthy controls. *Infect Immun*, 1994, 62(12):5673-5678.
- 7 Romagnani S. Induction of Th1 and Th2 responses: a key role for the natural immune response. *Immunol Today*, 1992, 13(10):379-381.

- 8 Zhang M, Lin Y, Dinakar V, et al. T cell cytokine responses in human infection with mycobacterium tuberculosis. *Infection and Immunity*, 1995, 63(8): 3231 - 3234.
- 9 Lin Y, Zhang M, Florencem, et al. Absence of a prominent Th2 cytokine response in human tuberculosis. *Infection and Immunity*, 1996, 64(4): 1351 - 1356.
- 10 Azouaou N, Petrofsky M, Yong L S, et al. Mycobacterium avium infection in mice is associated with time - related exoression of Th1 and Th2 CD4 T - Lymphocyte response. *Immunology*, 1997, 91: 414 - 420.
- 11 Surcel HM. Th1/Th2 profiles in tuberculosis, based on the proliferation and cytokine response of blood lymphocytes to mycobacterial antigens. *Immunology*, 1994, 81(2): 171 - 176.
- 12 Barnes PF, Lu S, John S, et al. Cytokine production at the site of disease in human tuberculosis. *Infect Immun*, 1993, 61: 3482 - 3489.
- 13 Dlugoritzky D, Torres A, Rateni L, et al. Circulating profile of Th1 and Th2 cytokines in tuberculosis patients with different degrees of pulmonary involvement. *FEMS Immunol Med Microbial*, 1997, 18(3): 203 - 207.
- 14 Brown DB, Miles BA, Zwilling HS. Growth of bacterium tuberculosis in BCG - resistant and susceptible mice: establishment of latency and reactivation. *Infect Immun*, 1993, 63: 2243 - 2245.
- 15 Rook GA, Hernandez R. Adjuvant endocrines and conserved epitopes: factors to consider when designing. "Therapeutic Vaccines". *Int J Immunopharmacol*, 1995, 17(2): 91 - 93.
- 16 Levin M, Newport M. Unravelling the genetic basis of susceptibility to mycobacterial infection. *J Pathol*, 1997, 181: 3 - 6.
- 17 Pearlman E, Kazura JM, Hazlett Jr, et al. Modulation of cytokine response to mycobacterial antigens by helminthinduced T helper 2 cell responses. *J Immunol*, 1993, 151(9): 4857 - 4864.
- 18 Lindblad EB, Elhay MJ, Silva R, et al. Adjuvant modulation of immune responses to tuberculosis subunit vaccines. *Infect Immun*, 1997, 65(2): 623 - 629.
- 19 Gajewski TF, M Pinnas, J Wong, et al. Murine Th1 and Th2 clones proliferate optimally in response to distinct antigenpresenting cell populations. *J Immunol*, 1991, 146: 1750 - 1758.
- 20 Swain SL. IL - 4 directs the development of TH - 2 like helper effectors. *J Immunol*, 1991, 145(11): 3796 - 3800.
- 21 Chensue SW, Warmington K, Ruth JH, et al. Effect of slow release IL - 12 and IL - 10 on inflammation, local macrophage function and reginal lymphoid response during mycobacterial (Th1) and schistosomal (Th2) antigen - elicited pulmonary granuloma formation. *Inflamm Res*, 1997, 46(3): 86 - 92.
- 22 Rogge L, Barberis L, Biffi N, et al. Selectiv expression of an interleukin - 12 receptor component by human Thelper 1 cells. *J Exp Med*, 1997, 185(5): 825 - 831.
- 23 Himmelrich H, Parra C, Tacchini F. et al. The IL - 4 rapidly produced in BALB/C mice after infection with Leishmania major down - regulates IL - 12 receptor beta 2 - chain expression on CD4 T cells resulting in a state of unresponsiveness to IL - 12. *J Immunol*, 1998, 161(11): 6156 - 6163.
- 24 Igarashi O, Yamane H, Imajoh S, et al. IL - 12 receptor (IL - 12R) expression and accumulation of IL - 12R beta 1 and IL - 12R beta 2 mRNAs in CD4 T cells by costimulation with B7 - 2 molecules. *J Immunol*, 1998, 160(4): 1638 - 1646.
- 25 Xu D, Chan WL, Leung BP, et al. Selective expression and functions of interleukin 18 receptor on T helper (Th) type 1 but not Th2 cells. *J - Exp - Med*, 1998, 188(8): 1485 - 1492.