

肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡研究进展

聂尚丹^{1,2}综述 黄炳成¹ 审校

(¹ 济南大学山东省医学科学院医学与生命科学学院, 山东 济南 250062; ² 济宁医学院法医学与医学检验学院, 济宁 272067)

关键词 肺结核; 凋亡; T 淋巴细胞

中图分类号: R521 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-9760(2013)04-147-03

目前, T 淋巴细胞凋亡逐渐成为人们关注的热点, 特别是其在感染性疾病中所发挥的作用更是学者们不断研究探索的重要课题。而肺结核又是目前最为普遍的感染性疾病, 其是由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) 感染引起, 具有发病人数多、耐药性强、预防治疗较为棘手的特点, 是目前世界上死亡率最高的慢性传染病。那么 T 淋巴细胞凋亡在肺结核病中的研究则显得尤为重要。T 淋巴细胞凋亡在结核病的中起到什么作用以及如何通过对肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡的研究, 阐明肺结核的分子免疫发病机制, 进而通过干预其相关因素找到预防治疗肺结核有效的新方法, 已是目前防治结核病研究中亟待解决的重大问题。现就肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡相关的研究做一综述。“凋亡”最早是用来描述细胞在一定的生理或病理条件下遵循自身的程序而死亡的一系列形态学上固定的变化形式。细胞凋亡 (apoptosis) 受自身基因调控, 是自行结束生命活动的过程, 也是细胞衰老死亡的一种主动过程, 因其发生受基因的调控并按一定的程序进行, 故又称为细胞程序性死亡 (programmed cell death, PCD)。

1 细胞凋亡在结核病中的作用

近年来, 有研究显示, 细胞凋亡在多种疾病的发生和发展中起着非常重要的作用^[1], 而且影响着疾病的发展和转归。其在感染性疾病发病中的作用也日益引起学者们的关注。大多数学者认为结核病时细胞凋亡是一种免疫保护机制, 细胞凋亡使结核分枝杆菌丧失原有的生存环境, 并可导致细菌活力的降低, 也可清除炎症部位的感染细胞。此外, 细胞凋亡还可抑制结核分枝杆菌生长和复制, 防止结核分枝杆菌感染的播散。细胞凋亡是机体维持自身稳态的重要手段, 同时在机体的免疫调节

过程中也发挥关键性作用。

研究普遍证实肺结核患者存在 T 细胞免疫应答的延迟, Maziar 等^[2]的研究则有力地解释了这一现象, 并指出其中的一个原因就与细胞凋亡有关。Soruri 等^[3]研究表明导致结核病持续存在的原因是 T 细胞受结核分枝杆菌抗原刺激后可发生激活诱导的细胞死亡 (activation induced cell death, AICD), 使机体免疫反应下调。Fayyazi 等^[4]研究发现, 在无干酪样坏死的结核性肉芽肿病变中仅可见少数的凋亡细胞, 而在结核性肉芽肿伴干酪样坏死病变中可见大量凋亡的 T 细胞, 这提示, T 细胞凋亡可能是促进结核病变中干酪样坏死发生的重要因素。

2 肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡的途径及相关因素

MTB 是典型的胞内寄生菌, 感染巨噬细胞后可在宿主细胞内繁殖, 裂解细胞或处于潜伏状态, 所以在感染过程中巨噬细胞是机体防御系统的第一道防线, MTB 可以诱导巨噬细胞凋亡, 故目前人们对于 MTB 调控巨噬细胞凋亡机制的研究较透彻^[5]。而对于 MTB 感染后 T 细胞凋亡的研究则较少。总结以往的研究发现肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡的途径及相关因素主要有以下几种:

2.1 Fas/ FasL 系统诱导凋亡

FasL 属 TNF 家族成员, 是 II 型跨膜蛋白, Fas 介导的死亡信号受体途径是 T 细胞发生 AICD 的主要途径, Fas 与之在体内的天然配体 FasL 相结合从而发挥凋亡诱导作用。Fas 基因在免疫系统细胞中广泛表达, 但主要以 T 淋巴细胞及 B 淋巴细胞中为主。Nichols 等^[6]分析了病毒感染后的淋巴细胞亚群发现 CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞均出现了凋亡, 而且凋亡的细胞表面高表达 Fas, 非凋亡细胞低表达 Fas; 当加入抗 Fas、FasL

抗体共同培养后,细胞凋亡显著减少。Abebe 等^[7]研究发现活动性肺结核存在高表达 Fas、FasL。可见 Fas/ FasL 系统可以诱导肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡。我们知道 CD4⁺ T 淋巴细胞明显下降是影响免疫功能的决定性因素,在免疫调节中具有重要作用。它通过其分泌的细胞因子和表达的分子调节免疫网络中其它细胞的生物学活性,对免疫反应的启动、最终表现形式和强弱起关键作用,故对于 Fas/ FasL 系统诱导 T 淋巴细胞的凋亡,特别是 CD4⁺ T 淋巴细胞凋亡研究的深入是十分必要的。

2.2 Bcl-2 与细胞凋亡

Bcl-2 属于跨膜蛋白,主要分布于核膜、线粒体膜和内质网膜上,Bcl-2 对于细胞凋亡的调节具有非常重要的作用^[8]。Llambi 等^[9]研究证实 Bcl-2 蛋白调节细胞凋亡的途径是通过控制线粒体膜的完整性来实现的。另外,Bcl-2 蛋白还可以调节细胞线粒体的分裂和融合^[10]。根据 Bcl-2 家族的功能可将其分为两大类:促凋亡 Bcl-2 蛋白和抗凋亡 Bcl-2 蛋白。大多数细胞同时表达多种促凋亡和抗凋亡 Bcl-2 蛋白,调节他们之间的相互作用可控制细胞的存亡。抗凋亡 Bcl-2 蛋白的主要成员包括 A1、Bcl-2、Bcl-w、Bcl-xL、Mcl-1,它们直接抑制促凋亡 Bcl-2 蛋白。促凋亡 Bcl-2 蛋白可分为效应蛋白和 BH3 蛋白。抗凋亡蛋白、唯 BH3 蛋白、以及效应蛋白之间的相互作用决定了凋亡的形成^[11]。近年来多项实验表明结核分枝杆菌感染可使外周血 T 细胞的凋亡增加,并且这种诱导凋亡效应是通过调节 Bcl-2 的表达来实现。

2.3 细胞因子介导细胞凋亡

2.3.1 白细胞介素 4(IL-4) IL-4 主要由 CD4⁺ T 淋巴细胞分泌,也可由 CD8⁺ T 淋巴细胞分泌,介导 Th2 型免疫反应,激活 Th0 细胞向 Th2 型细胞分化并抑制 Th1 型细胞免疫反应^[12]。张丽欣等^[13]研究发现局部病灶 IL-4 可能参与肺结核空洞形成的过程。Demissie^[14]研究提示长期控制 MTB 感染不仅需要 Th1 型反应的增强,也需要抑制 Th2 型反应。另一项研究发现,在 MTB 感染时 IL-4 可能会加剧 TNF- α 诱导的病理机制,促进细胞凋亡的发生^[15]。

2.3.2 白细胞介素 10(IL-10) MTB 感染的巨噬细胞可大量释放 IL-10,在结核病巨噬细胞凋亡的研究中,IL-10 被认为是细胞凋亡的抑制因子,具有抗细胞凋亡作用^[16]。体外实验发现,IL-10 升

高可促进 T 细胞发生激活诱导 AICD。IL-10 能促进 T 细胞亚群表达 Fas /FasL,尤其是诱导 CD4⁺ T 和 CD8⁺ T 细胞亚群高表达 FasL,主要使 Fas 表达显著增高的 CD4⁺ T 细胞亚群发生 AICD,使 CD4⁺ T 细胞比例下降^[17],进而导致 CD4⁺ T / CD8⁺ T 比值降低、细胞免疫功能缺陷。

2.3.3 肿瘤坏死因子(TNF- α) TNF 是 1975 年 carswell 等人给接种卡介苗的小鼠注射脂多糖后,血清中出现的一种能够使肿瘤组织出血坏死的物质,主要由激活的单核-巨噬细胞产生。TNF- α 由活化的单核细胞产生,其受体为 TNFR1 和 TNFR2,存在于多种细胞表面,TNFR1 在结构上与 Fas 同源,单独激活即可介导细胞凋亡,TNFR2 不参与细胞凋亡。TNF- α 与 TNFR1 结合后,诱导 TNFR1 的死亡结构域与受体作用蛋白(RIP)和 TNFR1 相关蛋白(TRADD)结合后,RIP 的死亡结构域再结合 RIP 相关半胱氨酸同源蛋白,从而激活半胱氨酸天冬氨酸特异性蛋白酶前体 2(pro-caspase2),继之激活 pro-caspase8 (或 pro-caspase10),再通过 caspase 的级联激活反应导致靶细胞凋亡。研究表明,在肺结核中 TNF- α 能够介导细胞凋亡^[18]。

2.3.4 转化生长因子(TGF- β) TGF- β 为一组多功能的小分子多肽,参与调节细胞生长、分化和免疫过程。所有细胞都能产生 TGF- β 的前体-潜伏 TGF- β ,它是由氮端的潜伏相关肽段(LAP)与碳端的成熟 TGF- β 以非共价键连接组成,只有当 TGF- β 从 LAP 上释放后才能具有生物活性,与相应受体结合,从而诱导一系列生物效应。在结核病中,TGF- β 主要发挥免疫调节作用,它既抑制 T 细胞的反应,又能使巨噬细胞失活^[19]。大量研究表明 TGF- β 既能增强某些细胞的增殖、分化能力,又能诱导某些细胞的凋亡反应。Ouyang 等^[20]的研究进一步揭示了 TGF- β 的重要功能,并发现 TGF- β 可以使促凋亡蛋白高表达,抗凋亡蛋白低表达,从而刺激 T 细胞凋亡。

3 研究肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡的意义

当前肺结核已出现广泛耐药,给其防治工作造成巨大威胁。寻找能够有效防治肺结核的新方法已刻不容缓。然而对于肺结核患者 T 淋巴细胞的凋亡情况及其相关因素的深入研究则可能是解决这个问题突破口,具有重要的临床意义。其不但可以解释肺结核患者出现的以 CD4⁺ T 淋巴细胞

减少为主要表现的免疫功能低下的相关作用机制,为临床上制定针对肺结核患者的提高机体免疫功能的治疗方案提供理论依据,而且可以进一步阐明结核病的免疫发病机制,找到与 T 淋巴细胞凋亡的相关因素,并对诱导或抗凋亡的这些相关因素进行干预,为肺结核的治疗提供新的思路。

综上所述,随着研究的深入及技术的进步,人们已经逐步意识到细胞凋亡在结核病的发生与发展过程中所起的重要作用,并不断探索着细胞凋亡在机体与 MTB 之间相互斗争中扮演的角色及其作用的具体机制。但是我们对此了解还远远不够,从目前的研究来看,人们对肺结核患者巨噬细胞及宿主细胞凋亡情况及其相关机制的认识较透彻,但是对于肺结核患者 T 淋巴细胞凋亡情况及其相关机制的研究较少。我们现在知道 T 淋巴细胞凋亡参与了结核病的免疫发病过程,并找到一些与其相关的因素,但是对于 T 淋巴细胞凋亡的具体情况怎样以及其如何影响机体的免疫功能等肺结核免疫发病机制方面的问题仍需深入探讨方能给出满意答案。

参考文献:

- [1] Fuchs Y, Steller H. Programmed cell death in animal development and disease[J]. *Cell*, 2011, 147(4): 742-758.
- [2] Divangahi M, Desjardins D, Nunes-Alres C, et al. Eicosanoid pathways regulate adaptive immunity to *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Nat Immunol*, 2010, 11(8): 751-758.
- [3] Soruri A, Schweyer S, Radzun HJ, et al. Mycobacterial antigens induce apoptosis in human purified protein derivative specific alphabeta T lymphocytes in a concentration-dependent manner[J]. *Immunology*, 2002, 105(2): 222-230.
- [4] Fayyazi A, Eichmeyer B, Soruri A, et al. Apoptosis of macrophages and T cells in tuberculosis associated caseous necrosis[J]. *J Pathol*, 2000, 191(4): 417-425.
- [5] Behar SM, Martin CJ, Booty MG, et al. Apoptosis is an innate defense function of macrophages against *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Mucosal Immunol*, 2011, 4(3): 279-287.
- [6] Nichols JE, Niles JA, Roberts NJ Jr. Human lymphocyte apoptosis after exposure to influenza A virus[J]. *J Virol*, 2001, 75(13): 5921-5929.
- [7] Abebe M, Doherty TM, Wassie L, et al. Expression of apoptosis-related genes in an Ethiopian cohort study correlates with tuberculosis clinical status[J]. *Eur J Immunol*, 2010, 40(1): 291-301.
- [8] Ola MS, Nawaz M, Ahsan H. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011, 351(1/2): 41-58.
- [9] Llambi F, Green DR. Apoptosis and oncogenesis: give and take in the BCL-2 family[J]. *Curr Opin Genet Dev*, 2011, 21(1): 12-20.
- [10] Martinou JC, Youle RJ. Mitochondria in apoptosis: Bcl-2 family members and mitochondrial dynamics[J]. *Dev Cell*, 2011, 21(1): 92-101.
- [11] Chipuk JE, Moldoveanu T, Llambi F, et al. The BCL-2 family reunion[J]. *Mol Cell*, 2010, 37(3): 299-310.
- [12] Yusuf I, Kageyama R, Monti celli L, et al. Germinal center T follicular helper cell IL-4 production is dependent on signaling lymphocytic activation molecule receptor(CD150)[J]. *Immunol*, 2010, 185(1): 190-202.
- [13] 张丽欣, 谭守勇. 空洞型肺结核患者痰上清液与血清中 IL-4、TNF- α 的水平检测[J]. *广东医学*, 2010, 31(21): 2819-2820.
- [14] Demissie A, Abebe M, Aseffa A, et al. Healthy individuals that control a latent infection with *mycobacterium tuberculosis* express high levels of Th1 cytokines and the IL-4 antagonist IL-4 delta2[J]. *J Immunol*, 2004, 172(11): 6938-6943.
- [15] Abebe M, Kim L, Rook G, et al. Modulation of cell death by M. tuberculosis as a strategy for pathogen survival[EB/OL]. *Clin Dev Immunol*, 2011, 2011: 678570. doi: 10. 1155/2011/678570.
- [16] Zeng L, O'Connor C, Zhang J, et al. IL-10 promotes resistance to apoptosis and metastatic potential in lung tumor cell lines[J]. *Cytokine*, 2010, 49(3): 294-302.
- [17] 王晓乐, 邱潮林, 吴秀梅, 等. SLE 患者外周血 T 细胞亚群凋亡特点及其相关机制的研究[J]. *中国免疫学杂志*, 2010, 26(4): 348-354.
- [18] Miller JL, Velmurugan K, Cowan M, et al. The type I NADH dehydrogenase of *mycobacterium tuberculosis* counters phagosomal NOX2 activity to inhibit TNF- α -mediated host cell apoptosis[EB/OL]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(4): e1000864. doi: 10. 1371/journal.ppat. 1000864.
- [19] 温文沛, 梁国飞, 梁国添. 细胞免疫抑制性肺结核的临床特征分析[J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(1): 14-16.
- [20] Ouyang W, Beckett O, Ma Q, et al. Transforming growth factor- β signaling curbs thymic negative selection promoting regulatory T cell development[J]. *Immunity*, 2010, 32(5): 642-653.

(收稿日期 2013-03-01)