

• 综述 •

转化生长因子- β 和调节性 T 细胞在动脉粥样硬化中的研究

褚昀赞 刘先哲

【摘要】 近年来随着动脉粥样硬化(AS)症患者的增多,对于该病的研究逐渐深入,特别是固有和获得性的免疫炎症机制参与了此疾病的发生、发展过程,当在疾病的发生过程中起保护作用的免疫因素受到抑制时,使疾病向不利方向发展。最新研究提示,转化生长因子- β 和调节性 T 细胞可能是机体内源性有效抑制 AS 的因子,它们介导的免疫反应消长控制着疾病的发生和发展。通过探讨这些细胞和因子在 AS 中的作用可以为疾病的预防和治疗提供新的靶点。

【关键词】 动脉粥样硬化;转化生长因子- β ;调节性 T 细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2011.04.001

动脉粥样硬化(AS)属于动脉的慢性炎症损伤,在研究疾病的发生、发展过程中,免疫机制的研究也逐渐深入。当促进和阻止 AS 发展的因素调节失衡时,保护因素降低可导致 AS 的恶化,但其确切的机制仍在研究中。转化生长因子 β (TGF- β)和调节性 T 细胞(Treg)在 AS 发病机制中都被证实属保护性因素。TGF- β 调节细胞的生长分化以及胶原蛋白的合成与分解,从而促进粥样斑块的稳定性,减少临床并发症;Treg 细胞参与免疫反应,调节/抑制免疫细胞的活性,减弱炎症反应,阻止疾病的病理发展过程。研究它们参与 AS 的作用机制有利于此病的防治。

1 TGF- β 与 AS

TGF- β 在所有类型的细胞中均以无活性形式合成和分泌,是参与调节细胞增殖与分化、机体生长与发育、免疫功能以及细胞外基质形成等多效应细胞因子。经各种蛋白酶的水解而激活,与细胞膜表面特异性受体结合启动胞内信号转导。TGF- β 作为一种免疫调节细胞因子和重要的纤维化细胞因子在 AS 中的作用受到关注。其中 TGF- β_1 在体细胞中所占比例最高,活性最强,功能最重要。

1.1 对血管细胞的影响

在 AS 血管中内皮细胞、平滑肌细胞、单核/巨噬细胞以及免疫细胞的参与是疾病最重要的特征之一,而 TGF- β 在这些细胞中的活化发挥着多种生

物学效应。内膜损伤后利于脂质的沉积,TGF- β_1 抑制血管内皮细胞致炎黏附分子的表达,它的缺失可以使内皮细胞活化,对早期脂质损害的发展变得敏感^[2]。降低 TGF- β 水平同时喂饲高脂饮食可协同增强血管内皮的活化、增殖以及脂质斑块的形成。血管平滑肌细胞的活化、增殖、迁移在 AS 进展中占主要作用,其分为合成型和收缩型。正常成人动脉血管内以收缩型为主,主要功能是维持血管弹性和收缩血管。合成型属于不成熟类型,分化程度低或未分化,合成和分泌基质蛋白能力强,主要功能是增殖、迁移入内膜和合成基质。在斑块形成的早期阶段,它开始增殖并迁移到内膜下,后期分泌多种促炎因子。TGF- β 通过调节血管平滑肌细胞的增殖及不同表型的分化,阻止促炎因子的分泌。并潜在刺激平滑肌细胞合成蛋白聚糖、细胞外基质蛋白,同时通过胞内 Smad 3 蛋白信号通路阻止血管平滑肌细胞的活化,刺激抗 AS 的抗白细胞介素 1(IL-1)受体及成纤维生长因子、血管内皮生长因子的表达,改变粥样斑块纤维帽中细胞外基质的数量和质量,维持人体粥样斑块的稳定性。在进展期 AS 斑块中基质的合成与分解,炎性细胞与平滑肌细胞总体之间的平衡是决定斑块稳定性的一个主要因素^[3]。

另外,TGF- β_1 可以抑制氧化低密度脂蛋白(ox-LDL)的摄取,调节巨噬细胞源性泡沫细胞的形成,通过诱导巨噬细胞表达 ATP 结合转录因子(ABCA1,ABCG1)和载脂蛋白 E 而刺激细胞中胆固醇的流出^[4]。ABCA1,ABCG1 通过调节细胞胆

作者单位:443002 宜昌,三峡大学医学院免疫学(褚昀赞);
443002 宜昌,三峡大学人民医院心内科(刘先哲)

固醇和磷脂与载脂蛋白的结合,增加高密度脂蛋白(HDL)的水平^[5]。TGF- β 还可增强抗炎性因子 IL-10 的产生,防止巨噬细胞的凋亡,阻止巨噬细胞内氮氧化物及过氧化物的产生,这些物质都参与疾病的炎症反应。因此,TGF- β 可能在调节这种“稳定性平衡”中起到了中枢作用。

1.2 对 Treg 的影响

TGF- β 可以介导原始 T 细胞分化产生辅助性 T 细胞(Th)3 细胞,阻止 Th1 和 Th2 细胞的分化,作为一类抑制性细胞因子还可以调节 T 细胞的增殖和凋亡,控制 Treg,阻止细胞毒 T 细胞的分化^[6]。从而减轻炎症反应,有利于斑块的稳定。

2 Treg 与 AS

在人体和动物模型的粥样硬化斑块中大多数的 T 细胞是 CD4⁺ T 细胞。其中 Th 细胞是主要成分。Th 细胞根据其分泌的细胞因子可以进一步分为 Th1、Th2 和 Th3 亚群。Mallat 等^[7]的研究表明,CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞控制 AS 的发生和发展过程,可以抑制 Th1 和 Th2 病理反应,控制多种免疫炎症疾病的发展,在免疫耐受的维持中起重要作用。Treg 种类很多,大致可以根据其来源,抗原特异性和效应机制分为固有型和诱导型两大类。转录因子 Foxp3 是 Treg 的特异性标志。

2.1 作用机制

研究发现,所有参与 Th1 细胞分化和激活的炎症介导因子、共刺激信号和转录因子在小鼠和人类 AS 斑块中都有表达^[8],它们可能对斑块炎症的维持和不稳定性有重要作用,并可促进早期斑块的形成,而早期斑块形成期 Th2 对 Th1 启动的炎症有抑制作用。但在高胆固醇血症的背景下 Th2 也可能成为一个危险因素。有研究认为,AS 斑块的形成和发展是由于致病的 Th1 细胞和(或) Th2 细胞与 Treg 的失衡所造成^[7]。在 AS 中 Treg 细胞主要通过以下机制发挥作用:(1)细胞与细胞间直接接触,Stassen 等^[9]的体外观察实验表明,Treg 以细胞接触依赖的方式通过 T 淋巴细胞毒性相关抗原 4、TGF- β 受体等与靶细胞上的相应受体结合,糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子参与并抑制靶细胞上 IL-2R α 链的表达,降低靶细胞对 IL-2 的反应性从而抑制效应 T 细胞的增殖与活化。活化的 T 细胞可以使巨噬细胞和平滑肌细胞产生金属蛋白酶,溶解、消化粥样斑块纤维帽中的基质,使斑块表现易破裂倾向。抑制 T 细胞的效应可以减轻免疫细胞在 AS 中炎症放大效应,阻止损伤进一步加重,稳定

斑块;(2)细胞因子介导,通过分泌多种抑制性细胞因子如 IL-10、IL-4 及 TGF- β 等抑制免疫反应。T 细胞 TGF- β 信号转导通路抑制后造成 T 细胞高反应性并向 Th1、Th2 分化增强,与粥样斑块炎症的加强有关。提示 Treg 对 AS 的保护作用需要 TGF- β 信号转导通路的参与^[10]。另外,在 AS 中 ox-LDL 是一个重要的影响因素。大量的自身抗原被氧化修饰,以及 ox-LDL、热休克蛋白等都可以调节 Treg 细胞的免疫耐受作用。研究表明 ox-LDL 下调 Treg Foxp3 的表达,阻断 Treg 信号传递,阻碍 Treg 对病理性效应 T 细胞(Teff)增殖的抑制作用^[11-12]。许多研究数据表明,在 AS 中 Treg 细胞的功能失调^[13],粥样斑块中只有少量的 Foxp3CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞,相比正常血管中或者是单纯的皮肤炎性损伤,Treg 细胞水平明显降低,通过过继性转移 Treg 细胞可以明显阻止 AS 的发展,在动物模型中能缩小已有的 AS 斑块面积^[14-18]。这表明在粥样斑块中这些发挥免疫保护作用的 Treg 细胞数量和功能受到抑制。而 Van 等^[19]用 Foxp3 转染的树突状细胞免疫 ox-LDL 受体缺陷的小鼠诱导自身免疫病,但 Foxp3 在 Treg 细胞中的表达对 AS 的作用却截然不同,Patel 等^[20]研究发现,Foxp3 的表达在易损性脂质斑块中显著高于最初形成的纤维性斑块,这一结论与多数研究结论相矛盾。目前仍认为 Foxp3CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞在特定的 AS 实验模型中水平呈降低,通过选择性诱导 Treg 细胞的凋亡结果显示血管炎性损伤加重^[21],消除 Treg 细胞会导致 AS 的发展。总体研究显示,在 AS 中 Treg 细胞发挥保护性作用。

3 TGF- β 和 Treg 在 AS 中的作用

在体外共培养的实验中,利用同类系的标志物 CD45.1 示踪 CD4⁺ CD25⁺ Treg,结果发现,与 CD45.1⁺ CD4⁺ CD25⁻ 细胞相反,前者可抑制 CD3 刺激引起的细胞增殖反应,诱导 T 细胞产生的 IL-10 增加 3 倍,TGF- β mRNA 增加 4 倍, γ 干扰素的产生减少 64%,而 IL-4 水平不受影响。说明 Treg 可诱导抑制性细胞因子 TGF- β 等的生成,从而发挥抗 AS 的作用。体内实验中,Treg 在体内可以存活,并具有调节潜能,诱导抗 AS 细胞因子的产生,促进 TGF- β -R-II 的表达,增强 TGF- β_1 的信号转导,从而抑制动脉粥样硬化的发展。

同时,由 TGF- β 诱导初始 Treg 细胞又称 Th3,主要调节 Th1 和 Th2 的平衡,诱导 Th1 向 Th2 转化,对 Th1 的应答有抑制作用。研究证明,TGF- β_1

缺乏的小鼠模型中 Treg 细胞的数量也减少^[22]；它与 Treg 细胞之间相互作用，共同扮演免疫反应的阴性调控者，对 AS 起保护作用。

4 结语

综上所述，Treg 细胞具有抗炎和抗 AS 的功能已得到肯定，TGF- β 协同 Treg 细胞抗炎，同时增强细胞外基质的分泌、稳定斑块、减少临床并发症。目前的研究大部分还处在动物实验阶段，对于利用这些靶点研制药物，其针对性、专一性的问题，以及临床疗效和它们未能预知的副作用，不同内环境调节通路的差异等这些问题都需要进一步的研究探索。但随着对 TGF- β 以及 Treg 作用机制的研究不断深入，同时还将有更多的免疫保护机制被发现，通过了解它们之间的相互作用，调节这些因子的表达，结合现有的介入技术和药物治疗，将为 AS 的预防和治疗开辟新的道路，相信在限制粥样硬化病变进展、强化斑块的稳定性以及改善临床治疗效果和预后方面都有重要意义。

参 考 文 献

- [1] Vink A, Pasterkamp G. Atherosclerotic plaque burden, plaque vulnerability and arterial remodeling: the role of inflammation[J]. *Minerva Cardioangiol*, 2002, 50(2): 75-83.
- [2] Grainger DJ, Mosedale DE, Metcalfe JC, et al. Dietary fat and reduced levels of TGF beta1 act synergistically to promote activation of the vascular endothelium and formation of lipid lesions[J]. *Cell Sci*, 2000, 113(13): 2355-2361.
- [3] Robbie L, Libby P. Inflammation and atherothrombosis[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2001, 947(1): 167-179.
- [4] Greenow K, Pearce NJ, Ramji DP. The key role of apolipoprotein E in atherosclerosis[J]. *J Mol Med*, 2005, 83(5): 329-342.
- [5] Oram JF, Heinecke JW. ATP-binding cassette transporter A1: a cell cholesterol exporter that protects against cardiovascular disease[J]. *Physiol Rev*, 2005, 85(4): 1343-1372.
- [6] Li MO, Wan YY, Sanjabi S, et al. Transforming growth factor- β regulation of immune responses[J]. *Annu Rev Immunol*, 2006, 24(1): 99-146.
- [7] Mallat Z, Tedgui A. Immunomodulation to combat atherosclerosis: the potential role of immune regulatory cells[J]. *Expert Opin Biol Ther*, 2004, 4(9): 1387-1393.
- [8] Buono C, Binder CJ, Stavrakis G, et al. T-bet deficiency reduces atherosclerosis and alters plaque antigen-specific immune responses[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(5): 1596-1601.
- [9] Stassen M, Schmitt E, Jonuleit H. Human CD4 + CD25 + regulatory T cells and infectious tolerance [J]. *Transplantation*, 2004, 77(1): 23-25.
- [10] Ait-Oufella H, Salomon BL, Potteaux S, et al. Natural regulatory T cells control the development of atherosclerosis in mice[J]. *Nat Med*, 2006, 12(2): 178-180.
- [11] Meier P, Meier R, Blanc E. Influence of CD4 + /CD25 + regulatory T cells on atherogenesis in patients with end-stage kidney disease[J]. *Expert Rev Cardiovasc Ther*, 2008, 6(7): 987-997.
- [12] Meier P, Golshayan D, Blanc E, et al. Oxidized LDL modulates apoptosis of regulatory T cells in patients with ESRD[J]. *Am Soc Nephrol*, 2009, 20(6): 1368-1384.
- [13] Mallat Z, Ait-Oufella H, Tedgui A. Regulatory T-cell immunity in atherosclerosis[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2007, 17(4): 113-118.
- [14] Goronzy JJ, Weyand CM. Immunosuppression in atherosclerosis: mobilizing the opposition within [J]. *Circulation*, 2006, 114(18): 1901-1904.
- [15] Tedgui A, Mallat Z. Cytokines in atherosclerosis: pathogenic and regulatory pathways[J]. *Physiol Rev*, 2006, 86(2): 515-581.
- [16] Heller EA, Liu E, Tager AM, et al. Chemokine CXCL10 promotes atherogenesis by modulating the local balance of effector and regulatory T cells [J]. *Circulation*, 2006, 113(19): 2301-2312.
- [17] Gotsman I, Grabie N, Gupta R, et al. Impaired regulatory T-cell response and enhanced atherosclerosis in the absence of inducible costimulatory molecule[J]. *Circulation*, 2006, 114(19): 2047-2455.
- [18] Mor A, Planer D, Luboshits G, et al. Role of naturally occurring CD4 + CD25 + regulatory T cells in experimental atherosclerosis[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Bio*, 2007, 27(4): 893-900.
- [19] Van Es T, Van Puijvelde GH, Foks AC, et al. Vaccination against Foxp3 (+) regulatory T cells aggravates atherosclerosis[J]. *Atherosclerosis*, 2010, 209(1): 74-80.
- [20] Patel S, Chung SH, White G, et al. The "atheroprotective" mediators apolipoprotein A-I and Foxp3 are over-abundant in unstable carotid plaques[J]. *Int J Cardiol*, 2010, 145(2): 183-187.
- [21] Xiong Z, Yan Y, Song J, et al. Expression of TCTP antisense in CD25 (high) regulatory T cells aggravates cuff-injured vascular inflammation[J]. *Atherosclerosis*, 2009, 203(2): 401-408.
- [22] Marie JC, Letterio JJ, Gavin M, et al. TGF-beta1 maintains suppressor function and Foxp3 expression in CD4 + CD25 + regulatory T cells[J]. *J Exp Med*, 2005, 201(7): 1061-1067.

(收稿: 2011-04-08 修回: 2011-06-09)

(本文编辑: 金谷英)