

Th17 细胞在病毒性心肌炎发病机制中的作用

李淑清综述 刘 巍 李为民审校

【摘要】 Th17 细胞是 T 辅助细胞家族成员,以产生白细胞介素(IL)-17 等细胞因子为特征。目前研究证实 Th17 细胞及其相关细胞因子在炎症性、自身免疫性疾病和肿瘤等疾病的发生、发展中有重要作用。心肌炎是一种在病因、发病机制和临床预后上都具有异质性的疾病,病毒感染和自身免疫性炎症是其主要发病机制,该病被视为心血管内科亟待解决的难题。Th17 细胞能促进心肌炎的发生、发展,但其是否为主要致病细胞及其具体作用时相尚存在分歧,因此深入探讨 Th17 细胞与心肌炎发病机制之间的关系,将有助于确定新的临床治疗策略。

【关键词】 Th17 细胞; 心肌炎; 白细胞介素; 自身免疫

DOI:10.3969/j.issn.1673-6583.2011.01.010

1 Th17 细胞及其主要细胞因子

白细胞介素(IL)-17 基因早在 1995 年就被 Yao 等^[1]克隆获得,但 Th17 细胞的发现和鉴定却是最近 4 年才取得的进展。该类效应性 T 淋巴细胞是 CD4⁺ Th 细胞的又一新家族成员,以产生细胞因子 IL-17 为特征,因此被称为 Th17 细胞^[2-3]。人类 Th17 细胞除了分泌 IL-17A 和 IL-17F,还能产生肿瘤坏死因子(TNF)- α 、IL-6、IL-22、IL-21 和 IL-26^[4-7]。IL-17 家族包括 IL-17A~F 等 6 个成员。通常所说的 IL-17 特指 IL-17A。IL-17 受体是一种异源二聚体,即由 IL-17RA 和 IL-17RC 组成,广泛分布于 1 型膜糖蛋白上^[8]。人类 Th17 细胞能表达 CCR4、CCR6、IL-23R,并且 CD161(NK1.1 的人类蛋白质直系同源性)与其关系密切,脐带血单核细胞表达 CD161 的部分含有 Th17 细胞前体,且人体特定部位的 Th17 细胞也高表达 CD161^[9]。

2 Th17 细胞在炎症性疾病中作用

啮齿类动物在对抗细菌,如:大肠杆菌、沙门菌、肺炎克雷伯杆菌和百日咳伯德特菌的保护性免疫中,需要 IL-17 参与。Th17 细胞对于清除多种条件性致病菌非常重要,如:新型隐球菌、卡氏肺囊虫、白色念珠菌^[10],以及葡萄球菌。免疫疫苗诱导 Th17 细胞产生对结核分枝杆菌起到一定的对抗作用^[11]。然而在某些情况下,IL-17 的过量产生则是有害的,如:幽门螺杆菌持续性胃肠炎症、由铜绿假

单胞菌引起的内毒素休克和囊性纤维化等,可促使 IL-23 产生水平增加,诱导产生 IL-17 的 CD4 细胞增加,IL-17 水平增加,使支气管肺泡灌洗液中的炎症细胞和细胞因子及趋化因子如中性粒细胞、巨噬细胞、巨噬细胞炎症蛋白-1 α 和 IL-6 等水平增加,进一步加重炎症反应。IL-23 和 IL-17 依赖的慢性炎症具有致癌作用,这些细胞因子能促发人类肿瘤的发生,IL-23 缺陷小鼠能下调基质金属蛋白酶(MMP-9),减少血管生成,在一定程度上减少肿瘤的发生^[12]。IL-17 可能加重单纯疱疹病毒、呼吸道合胞病毒、人类白血病病毒 1 型和人类免疫缺陷病毒(HIV)等炎症反应,导致死亡率增加^[13]。近来发现,丙型肝炎病毒特异的 Th17 细胞能被病毒产生的转化生长因子(TGF)- β 所抑制,提示抑制 Th17 细胞可能是病毒免疫逃避的潜在机制之一。

3 心肌炎与病毒感染和自身免疫

心肌炎是由不同病因引起的心肌细胞炎症性疾病,临床表现具有很高的异质性,可以从无症状到发生心力衰竭、猝死。急性阶段的心肌局限性损害使部分患者在几年的潜伏期后,出现左室功能广泛受损,此刻病毒颗粒虽检不出,但激活的自身免疫反应造成了未感染心肌细胞的非选择性溶解。心肌炎和扩张型心肌病(DCM)分别代表了心肌器官特异性自身免疫病的急性和慢性阶段。丙型肝炎病毒、流感病毒、单纯疱疹病毒、EB 病毒、细小病毒 B19、巨细胞病毒、腺病毒和肠道病毒都是常见的致心肌炎(嗜心肌)病毒, HIV 也可通过自身 1 型糖蛋白抑制心肌收缩,导致心脏毒性而引发心肌炎。细菌、立克次体、霉菌、原虫感染致心肌炎概率也很高。

病毒在心肌炎发病机制中的作用包括:病毒直

基金项目:国家自然科学基金青年基金(30800481);教育部博士点基金(20070226005);黑龙江省青年科学技术专项资金(QQ07C84)

作者单位:150001 哈尔滨医科大学附属第一医院内科

接介导心肌损伤;病毒血症导致心脏微血管痉挛;致心肌细胞坏死和功能障碍。病毒进入心肌细胞后开始复制和合成病毒蛋白,进而导致细胞功能障碍和促进凋亡。微小核糖核酸病毒蛋白酶 2A 能分裂真核起始因子-4G,抑制宿主细胞蛋白合成。柯萨奇病毒 B3(CVB3)的蛋白酶 2A 能裂解抗肌萎缩蛋白,从而使肌动蛋白 N-基末端和杆结合区域与 b-抗肌萎缩蛋白聚糖-结合区域分离,破坏心肌细胞骨架和胞膜的完整性导致细胞渗透性增加和促进细胞死亡。CVB3 蛋白酶 2A 单独足以诱导心肌病^[14,15]。抗肌萎缩蛋白缺陷也能促进病毒向邻近心肌细胞传播增强心脏对 CVB3 的易感性^[16]。CVB3 蛋白酶 2A 和 3C 能活化外部半胱天冬酶-8/内部线粒体介导的凋亡路径促进心肌细胞凋亡^[17]。

病毒感染后能诱发机体固有免疫和适应性免疫应答;当病毒进入人体时,固有免疫反应就开始了,此时炎症细胞渗入到心肌,释放各种细胞因子[如:自然杀伤细胞、干扰素(IFN)- γ 、IL-1、IL-2、TNF- α 、弹性蛋白酶、一氧化氮等],在清除病毒的同时也促进心肌炎症发展^[18]。病毒感染数天后,机体抗原提呈细胞能识别提呈病毒释放的物质和某些心脏蛋白,从而活化适应性免疫反应,产生针对病毒的中和抗体,进一步清除病毒。但在遗传易感患者中也会针对自身心脏蛋白产生自身抗体,如:[对心肌球蛋白重链的自身抗体、抗腺苷酸转运蛋白(ANT)抗体、 β 1-肾上腺素能受体抗体、M2-胆碱能受体抗体、抗 Na-K-ATP 酶抗体等],这些自身抗体导致心脏损伤及向 DCM 转变。

4 Th17 细胞在心肌炎发病机制中的作用

研究证实,产生致炎细胞因子 IL-17 的新型 T 辅助细胞亚群(Th17 细胞)参与多种自身免疫性疾病,包括实验性自身免疫性脑脊髓膜炎(EAE)、胶原诱导关节炎和 T 细胞介导结肠炎的病理形成过程。

4.1 支持 Th17 细胞为心肌炎主要致病细胞的证据

尽管 Th17 细胞在心肌炎发生、发展的病理过程中的确切机制目前还不是十分清楚,但是已有一些研究证实 Th17 细胞与心肌炎的关系密切。在 Myo4 诱导的 A/J 小鼠自身免疫性心肌炎模型中,急性期免疫的脾细胞和淋巴细胞中 IFN- γ 、IL-6、IL-17,而不是 IL-4,表达水平明显增高,这足以说明在这种心肌炎模型中 Th1 和 Th17 起了重要的致病作用,Th2 的作用几乎可以忽略不计。Th17 细胞

可能通过促进 Th1 应答细胞,如:单核细胞、巨噬细胞和中性粒细胞到达炎症部位,促进其增殖和延长生存时间,进而发挥致病作用^[19]。Chang 等^[20]应用心肌球蛋白诱导的 EAM 中,心脏组织中 IL-17、IL-17R、IL-23 和 IL-23R mRNA 和 IFN- γ 表达均增加,IL-17 尤为显著,IL-17mRNA 的水平是 IFN- γ 的 20~30 倍。IL-23 主要由 CD11b⁺ 细胞、巨噬细胞或树突状细胞产生,是 Th17 细胞从原始 CD4⁺ T 细胞分化和扩增的主要作用细胞因子,这就不难推断在心肌炎发病过程中,IL-23 能通过促进 Th17 细胞分化和产生 IL-17 引发心脏炎症。应用 IL-10-Ig 蛋白能抑制 IL-1 刺激的实验性自身免疫性心肌炎(EAM)鼠脾细胞中 IL-17 基因表达,减轻 EAM 的严重性。Liu 等^[21]证实,以融合蛋白型阻滞剂干扰 Th17 细胞的共刺激分子信号通路,通过改变 Th1/Th2/Th17 三者的平衡关系,从而减轻大鼠心肌局部炎症,对炎症后心肌纤维化的保护作用更明显。提示 Th17 细胞可能是心肌炎向 DCM 转化(纤维化及心脏重构)的重要细胞类型。

为探讨 Th17 细胞在人类心肌炎中的进一步作用,Yuan 等^[22]以急性病毒性心肌炎(AVMC)和 DCM 患者为研究对象,发现 Th17 细胞和 Th1 细胞,尤其是 Th17 细胞在 AVMC 患者中显著增加;而 Th2 和 Th1 细胞,特别是 Th2 细胞在 DCM 中,较对照组明显增加。Th2 细胞在 AVMC 和 Th17 细胞在 DCM 中没有明显改变。在对 Th 细胞因子(IL-17,IFN- γ ,IL-4)和关键的转录因子(ROR γ t,T-bet,GATA-3)观察中也得到相似的结论,这与小鼠 EAM 模型的结果相近。更为重要的是,AVMC 和 DCM 中 IgG 型抗心脏抗体(AHA),伴随 B 细胞 IL-17R 和 B 细胞频率增加而增加。并且 B 细胞升高与 IL-17 和 IL-4 正相关,而与 IFN- γ 无关。这说明 Th17 细胞可能激活 B 细胞,通过释放 IL-17 来作用于 B 细胞的 IL-17R,然后活化 B 细胞的活化因子信号途径加强 AVMC 的体液免疫反应。当 AVMC 发展到 DCM 时,IL-4 水平上调而 IL-17 被抑制,转变为 Th2 对疾病中的体液免疫起主要作用。为进一步证实 Th17 细胞在 AVMC 中的致病作用,Yuan 等^[23]应用 IL-17 单克隆抗体处理 AVMC 鼠,显示 HW/BW 降低,血清肌酸激酶同工酶活性下降和心脏切片病理评分提高,循环 IL-17 水平和血清抗-ANT 自身抗体下降,并经体外研究进一步证实,IL-17 单克隆抗体能抑制 CD19⁺ B 淋巴细胞增殖和抗-ANT 自身抗体的产生,从此可

以看出 IL-17 能促进鼠 AVMC 进展。

然而,目前还不清楚 Th17 和 Th2 为什么会在病毒性心肌炎的不同阶段起作用,以及两者的相互作用。此外,Th17 细胞的其他细胞因子,如:IL-21(一种能促进 B 细胞活化和浆细胞分化,使免疫球蛋白产生增加,增加亚型的转变,并调控增殖和凋亡;和正反馈作用于 Th17 细胞促进其生长分化的细胞因子)是否也参与对体液免疫反应的调控还需进一步研究。

4.2 否认 Th17 细胞是心肌炎主要致病细胞的证据

应用 VLP-基础的疫苗接种方法显示,中和 IL-17 减轻 EAM 的严重程度^[24]。我们也在研究中发现,应用单克隆抗体阻断 IL-17 将明显减轻 EAM,证实 IL-17 在 EAM 中的致病作用。但究竟是 Th1 细胞还是 Th17 细胞在心肌炎发病机制中占主导地位,目前尚存在争议。Cihakova 等^[25]的研究中,与 BALB/c 对照鼠相比,心肌炎病情严重的 IL-13 KO 鼠在 EAM 致病高峰时,心脏组织中 IL-17 水平明显下降。在 IL-13 缺乏时,由于在 IL-13 KO 鼠心脏中 TNF- γ 明显增加,因此 Th17 途径可能是心肌炎的主要发病机制。实验显示,Th1 细胞能诱导出严重性与 Th17 细胞相似的心肌炎。在研究中,IL-17A KO 鼠也能发展为心肌炎,只是病情比 WT 鼠略轻。一些 IL-17A KO 鼠炎症细胞入侵心脏超过 30%,这提示即使没有 IL-17A,疾病也能发展到严重阶段。显示 IL-17A 对于自身免疫疾病发生发展不是必须的。最近发表的实验性自身免疫性葡萄膜炎(EAU)模型也得到了相似的结果^[26]。研究发现,在缺乏 IL-17 的 IL-17A KO 鼠中,与 WT 鼠相比 EAU 疾病严重性相似。另外,IL-12R β 1 受体(IL-12 和 IL-23 的共同受体)缺陷鼠 IL-1 β 水平下降,并与心肌炎病情减轻有关。IL-23 促进炎症反应很可能是通过刺激其他致炎性细胞因子的产生而实现。因此,可能是 IL-23 而非 IL-17A 是人类自身免疫疾病治疗干预的优先靶点。

5 结语

Th17 细胞已被证实参与多种炎症性及自身免疫性疾病的病理生理过程,然而在心肌炎中的作用机制还有待进一步研究。确定 Th17 细胞及其相关细胞因子在心肌炎中的作用及其作用时相将有助于开发新的临床治疗靶点。

参 考 文 献

[1] Yao Z, Fanslow WC, Seldin MF, et al. Herpesvirus Saimiri encodes a new cytokine, IL-17, which binds to a novel

cytokine receptor[J]. Immunity, 1995, 3(6): 811-821.

- [2] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin17[J]. Nat Immunol, 2005, 6(11): 1133-1141.
- [3] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, et al. Interleukin-17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type1 and 2 lineages[J]. Nat Immunol, 2005, 6(11): 1123-1132.
- [4] Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, et al. Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells[J]. Nat Immunol, 2007, 8(6): 639-646.
- [5] Wilson NJ, Boniface K, Chan JR, et al. Development, cytokine profile and function of human interleukin 17-producing helper T cells[J]. Nat Immunol, 2007, 8(9): 950-957.
- [6] Volpe E, Servant N, Zollinger R, et al. A critical function for transforming growth factor-beta, interleukin 23 and proinflammatory cytokines in driving and modulating human T(H)-17 responses[J]. Nat Immunol, 2008, 9(6): 650-657.
- [7] Manel N, Unutmaz D, Littman DR. The differentiation of human T(H)-17 cells requires transforming growth factor-beta and induction of the nuclear receptor ROR γ mat[J]. Nat Immunol, 2008, 9(6): 641-649.
- [8] Toy D, Kugler D, Wolfson M, et al. Cutting edge: interleukin 17 signals through a heteromeric receptor complex[J]. J Immunol, 2006, 177(1): 36-39.
- [9] Cosmi L, De Palma R, Santarlasci V, et al. Human interleukin17-producing cells originate from CD161⁺ CD4⁺ T cell precursor[J]. J Exp Med, 2008, 205(8): 1903-1916.
- [10] Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, et al. Th17 cells in human disease[J]. Immunol Rev, 2008, 223: 87-113.
- [11] Khader SA, Bell GK, Pearl JE, et al. IL-23 and IL-17 in the establishment of protective pulmonary CD4⁺ T cell responses after vaccination and during Mycobacterium tuberculosis challenge[J]. Nat Immunol, 2007, 8(4): 369-377.
- [12] Langowski JL, Zhang X, Wu L, et al. IL-23 promotes tumour incidence and growth[J]. Nature, 2006, 442(7101): 461-465.
- [13] Smiley KL, McNeal MM, Basu M, et al. Association of gamma interferon and interleukin-17 production in intestinal CD4⁺ T cells with protection against rotavirus shedding in mice intranasally immunized with VP6 and the adjuvant LT (R192G) [J]. J Virol, 2007, 81(8): 3740-3748.
- [14] Badorff C, Lee GH, Lamphear BJ, et al. Enteroviral protease 2A cleaves dystrophin: evidence of cytoskeletal disruption in an acquired cardiomyopathy[J]. Nat Med, 1999, 5(3): 320-326.
- [15] Xiong D, Yajima T, Lim BK, et al. Inducible cardiac-restricted expression of enteroviral protease 2A is sufficient to induce dilated cardiomyopathy[J]. Circulation, 2007, 115(1): 94-102.

(下转第 47 页)

- [16] Hill AJ, Laske TG, Coles JA Jr, et al. In vitro studies of human hearts[J]. *Ann Thorac Surg*, 2005, 79(1): 168-177.
- [17] Schenkman KA, Beard DA, Ciesielski WA, et al. Comparison of buffer and red blood cell perfusion of guinea pig heart oxygenation. [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285(5): H1819-H1825.
- [18] Clements-Jewery H, Hearse DJ, Curtis MJ. The isolated blood-perfused rat heart: an inappropriate model for the study of ischemia-and infarction-related ventricular fibrillation[J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 137(7): 1089-1099.
- [19] Clements-Jewery H, Hearse DJ, Curtis MJ. Independent contribution of catecholamines to arrhythmogenesis during evolving infarction in the isolated rat heart[J]. *Br J Pharmacol*, 2002, 135(3): 807-815.
- [20] Abete P, Cacciatore F, Testa G, et al. Clinical application of ischemic preconditioning in the elderly[J]. *Dose Response*, 2009, 8(1): 34-40.
- [21] Kloner RA, Przyklen K, Whittaker P, et al. Preconditioning stimuli and inadvertent preconditioning [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1995, 27(2): 743-747.
- [22] Awan MM, Taunyane C, Aitchison KA, et al. Normothermic transfer times up to 3 min will not precondition the isolated rat heart[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 1999, 31(3): 503-511.
- [23] Zhu M, Feng J, Lucchinetti E, et al. Ischemic postconditioning protects remodeled myocardium via the PI3K-PKB/Akt reperfusion injury salvage kinase pathway [J]. *Cardiovasc Res*, 2006, 72(1): 152-162.
- [24] Matejiková J, Kucharská J, Pintérová M, et al. Protection against ischemia-induced ventricular arrhythmias and myocardial dysfunction conferred by preconditioning in the rat heart: involvement of mitochondrial K(ATP) channels and reactive oxygen species[J]. *Physiol Res*, 2009, 58(1): 9-19.
- [25] Yang L, Yu T. Prolonged donor heart preservation with pinacidil: the role of mitochondria and the mitochondrial adenosine triphosphate-sensitive potassium channel [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2010, 139(4): 1057-1063.
- [26] Schröder C, Heintz A, Pexa A, et al. Preclinical evaluation of coronary vascular function after cardioplegia with HTK and different antioxidant additives[J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2007, 31(5): 821-826.

(收稿: 2010-07-05 修回: 2010-07-19)

(本文编辑: 金谷英)

(上接第 36 页)

- [16] Xiong D, Lee GH, Badorff C, et al. Dystrophin deficiency markedly increases enterovirus-induced cardiomyopathy: a genetic predisposition to viral heart disease[J]. *Nat Med*, 2002, 8(8): 872-877.
- [17] Chau DH, Yuan J, Zhang H, et al. Coxsackievirus B3 proteases 2A and 3C induce apoptotic cell death through mitochondrial injury and cleavage of eIF4G1 but not DAP5/p97/NAT1[J]. *Apoptosis*, 2007, 12(3): 513-524.
- [18] Huang CH, Vallejo JG, Kollias G, et al. Role of the innate immune system in acute viral myocarditis[J]. *Basic Res Cardiol*, 2009, 104(3): 228-237.
- [19] Daniels MD, Hyland KV, Wang K, et al. Recombinant cardiac myosin fragment induces experimental autoimmune myocarditis via activation of Th1 and Th17 immunity[J]. *Autoimmunity*, 2008, 41(6): 490-499.
- [20] Chang H, Hanawa H, Yoshida T, et al. Alteration of IL-17 related protein expression in experimental autoimmune myocarditis and inhibition of IL-17 by IL-10-Ig fusion gene transfer[J]. *Circ J*, 2008, 72(5): 813-819.
- [21] Liu W, Feng W, Wang F, et al. Adenovirus-mediated ICOSlg gene transfer alleviates cardiac remodeling in experimental autoimmune myocarditis [J]. *Immunol Cell Biol*, 2008, 86(8): 659-665.
- [22] Yuan J, Cao AL, Yu M, et al. Th17 cells facilitate the humoral immune response in patients with acute viral myocarditis[J]. *J Clin Immunol*, 2010, 30(2): 226-234.
- [23] Yuan J, Yu M, Lin QW, et al. Neutralization of IL-17 inhibits the production of anti-ANT autoantibodies in CVB3-induced acute viral myocarditis [J]. *Int Immunopharmacol*, 2010, 10(3): 272-276.
- [24] Sonderegger I, Röhn TA, Kurrer MO, et al. Neutralization of IL-17 by active vaccination inhibits IL-23-dependent autoimmune myocarditis[J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(11): 2849-2856.
- [25] Cihakova D, Barin J G, Afanasyeva M, et al. Interleukin-13 protects against experimental Autoimmune myocarditis by regulating macrophage differentiation[J]. *Am J Pathol*, 2008, 172(1): 1195-1208.
- [26] Luger D, Silver P B, Tang J, et al. Either a Th17 or a Th1 effector response can drive autoimmunity: Conditions of disease induction affect dominant effector category[J]. *J Exp Med*, 2008, 205(4): 799-810.

(收稿: 2010-06-10 修回: 2010-09-15)

(本文编辑: 金谷英)