

•综述•

调节性T细胞在白癜风发病机制中的作用及治疗应用

魏 伟^{1,2} 何奕德³ 李 萌³ 夏 宇³ 隋秉东³ 高 琳⁴ 李 凯⁴综述, 刘 玲⁴审校

(1. 解放军63888部队 河南 济源 454650; 2. 第四军医大学西京医院骨科 陕西 西安 710032; 3. 第四军医大学口腔医院 军事口腔医学重点实验室 陕西 西安 710032; 4. 第四军医大学西京医院皮肤科 陕西 西安 710032)

[摘要] 白癜风是一种临床常见的色素脱失性皮肤病,以表皮基底层黑色素细胞凋亡破坏为特点,发病机制复杂,治疗手段有限。白癜风的发病与免疫系统功能失调关联很大,其中自身免疫反应过度激活是其重要因素。在机体免疫系统中,CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺调节性T细胞(T regulatory cells, Tregs)发挥着调节免疫应答和维持免疫稳态的重要作用。研究显示,白癜风患者外周血中和皮损处的Tregs存在数量减少和功能减弱的现象。Tregs分泌免疫调节相关细胞因子水平下降,插头/翅膀状螺旋转录因子3(FOXP3)、细胞毒性T淋巴细胞表面抗原-4(CTLA-4)以及趋化因子CCL22均表达不良。因此,通过靶向恢复Tregs表达异常基因的治疗是当前白癜风研究的热点领域,此外,过继转移Tregs疗法已在白癜风动物模型上取得了一定的疗效。进一步阐明Tregs在白癜风发病机制中的具体作用,探索Tregs靶向治疗方法,将为白癜风的预防和治疗提供新思路。

[关键词] Tregs; 调节性T细胞; 白癜风; 自身免疫反应; FOXP3

[中图分类号] R758.4⁺1 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-6455(2018)01-0133-04

Roles of Regulatory T Cells in the Pathogenesis of Vitiligo and Therapeutic Applications

WEI Wei^{1,2}, HE Yi-de³, LI Meng³, XIA Yu³, SUI Bing-dong³, GAO Lin⁴, LI Kai⁴, LIU Ling⁴

(1. 63888 Troop, The Chinese People's Liberation Army, Jiyuan 454650, Henan, China; 2. Department of Orthopaedics, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China; 3. State Key Laboratory of Military Stomatology, School of Stomatology, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China; 4. Department of Dermatology, Xijing Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

Abstract: Vitiligo is a kind of common pigmented dermatoses with high prevalence but limited therapeutic options. It is characterized by apoptotic damage of melanocytes of the basal layers of the epidermis resulted from a complicated pathogenesis. The development of vitiligo is associated with the dysfunction of the immune system, especially the overactivation of the auto-immune reaction. In the immune system, CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺ regulatory T cells (Tregs) play significant roles in the modulation of immune responses and the maintenance of the immune homeostasis. Recent studies have demonstrated the decrease in the values and activities of Tregs in the peripheral blood and the skin lesions of patients with vitiligo. Furthermore, the immunoregulation-related cytokines secreted by Tregs are reduced, while the expression of FOXP3, CTLA-4 and CCL22 decrease. Therefore, target therapy for the abnormal gene expression of Tregs is a hotspot of current researches in the treatment of vitiligo. In addition, studies found that the adoptive transfer of Tregs induced vitiligo amelioration in mice. On the basis of these studies, further elucidating the function of Tregs in the pathogenesis of the vitiligo and improving Tregs-targeted therapeutic approaches will provide new ideas in the prevention and management of the vitiligo.

Keywords: Tregs; regulatory T cells; vitiligo; auto-immune responses; FOXP3

白癜风(vitiligo)是一种因表皮黑素细胞被破坏而引起以色素脱失斑为特征的损容性皮肤病,发病率0.5%~2%,呈逐年上升趋势^[1]。表皮黑素细胞的破坏与氧化应激、遗传、自身免疫、细胞凋亡等密切相关。既往研究表明,白癜风是一种自身免疫性疾病,体液免疫和细胞

免疫均可导致表皮黑素细胞的破坏与凋亡^[2]。其中,细胞免疫应答是介导白癜风患者表皮黑素细胞破坏的主要途径,而皮损周围浸润的自身反应性T细胞(CD8⁺CTL等)是发挥杀伤作用的主要效应细胞^[3-4]。CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺调节性T细胞(T regulatory cells, Treg)是具有较强免疫调控作

用的T细胞亚群, 插头/翅膀状螺旋转录因子3 (Forkhead/Winged helix transcription factor 3, FOXP3) 特征性地高表达在Tregs上, 可与多种转录调节蛋白结合形成FOXP3蛋白复合体, 通过调控包括其自身在内的基因特异性转录, 影响Tregs的免疫调节功能^[5]。Tregs可抑制包括CD8⁺T细胞在内的多种效应免疫细胞的功能, Tregs数量或功能的异常可导致自身免疫性疾病的发生^[6]。Tregs的深入研究为探索自身免疫性疾病的发病机制和寻找有效治疗提供了新思路^[7]。

近年研究表明, 在白癜风发病过程中, Tregs的数量和功能出现的病理性变化^[8-14], 对白癜风的自身免疫激活和疾病进展可能具有重要作用, 但具体效应和机制仍未阐明。本文就近年来Tregs在白癜风发病机制中的作用及治疗应用的研究进展作一综述。

1 在白癜风发病中Tregs数量异常

2007年, Zhang等^[7]在靶向Tregs治疗黑素瘤小鼠模型时意外发现, 小鼠体内Tregs数量的下降激活了抗黑素瘤细胞CTL, 其在导致黑素瘤细胞凋亡的同时, 也杀伤了正常黑素细胞, 从而诱发小鼠罹患白癜风。此后利用流式细胞学检测发现, 白癜风患者外周血中的Tregs数量低于正常人群^[9], 其中处于白癜风早期和进展期的患者Tregs数量减少更为显著^[10, 15]。国内研究也有相似发现, 吴艳红等^[16]通过分析进展期白癜风患者外周血中Tregs细胞, 发现其比例相对于正常人明显降低, 而经NB-UVB治疗症状改善的患者其Tregs比例明显回升。此外, 白癜风患者皮损处的Tregs数量相对于周围正常皮肤也明显减少^[17]。Eby等在最近的研究中发现, 在罹患白癜风的小鼠模型中, 白癜风症状改善的过程伴随着Tregs的大量浸润, Tregs的作用可明确为抑制机体对黑素细胞的进行性自身免疫反应^[18]。有研究报道了稳定期白癜风患者外周血和皮损处Tregs数目并未发生改变^[19], 甚至有可能增加^[20]。这可能与白癜风不同发病阶段免疫稳态的不同相关。在白癜风进展期更依赖与免疫稳态异常导致的黑素细胞被破坏, 而在白癜风稳定期免疫稳态异常并不显著。

2 在白癜风发病中Tregs功能异常

进一步研究发现, 在白癜风发病中, 不但Tregs细胞数量异常, Tregs细胞功能也存在异常, 对Tregs功能异常及其调控因素的变化阐述将有助于我们进一步认识白癜风的发病机理。

2.1 FOXP3基因表达不良: FOXP3是叉头状转录因子家族成员, 调控该转录因子基因的持续性表达是Tregs行使正常的免疫抑制功能所必须存在的因子^[5]。FOXP3可以与许多转录调节蛋白形成FOXP3蛋白复合体, 动态调控包括其自身在内的基因特异性转录, 介导Tregs的免疫调节功能^[21]。在白癜风的相关研究中, 发现白癜风患者体内存在FOXP3表达量减

少的现象, 这可能是体内Tregs功能丧失的重要原因^[10]。Hegazy等^[11]发现白癜风患者皮损处及皮损周围FOXP3 mRNA水平比正常人的显著降低, 李延慧等^[16]的研究证实, 经NB-UVB治疗后显效的患者, 其Tregs细胞中FOXP3 mRNA较前有显著增加。FOXP3基因突变会引起多种自身免疫性疾病^[22]。既往研究发现FOXP3基因多态性与白癜风易感性有联系^[23]。rs3761548基因, 即位于FOXP3基因表达序列的一个单核苷酸位点, 其基因多态性中的rs3761548 AA基因型可影响转录因子E47与C-Myb之间的联系从而导致FOXP3的缺陷表达^[24]。Jahan和Song等^[25-26]分别对印度和中国汉族人口进行FOXP3基因研究, 发现rs3761548和rs2232365单核苷酸位点与白癜风易感性有着重要关联, 其中rs3761548 AA基因型、rs2232365 GG基因型降低FOXP3的表达从而影响Tregs功能, 并可破坏Th1与Th2亚群细胞之间的平衡, 导致白癜风的发生。

2.2 Tregs分泌免疫调控细胞因子水平下降: 转化生长因子- β (TGF- β) 被证实有诱导CD4⁺CD25⁻Tregs向CD4⁺CD25⁺Tregs转化的作用^[27], 也可促使FOXP3在iTregs中表达^[28]。研究认为, Tregs的免疫抑制功能是通过TGF- β 相关机制实现的^[29]。在活动期白癜风患者的血清中, TGF- β 聚集能力相比稳定期患者显著下降, 提示低水平的TGF- β 可能与Tregs功能抑制和疾病进展相关^[12]。

白介素-10 (IL-10) 可诱导产生Tregs, Tregs进而也可分泌IL-10发挥免疫抑制作用^[30]。动物实验发现, 对自发性黑素瘤小鼠模型杀伤Tregs、中和IL-10, 可降低黑素瘤转移几率, 但同时也导致小鼠白癜风发病率显著提高^[31]。Tembhre等^[9]证实, 活动期白癜风患者体内IL-10水平较稳定期显著下降^[12]。通过衡量机体内自身反应性T细胞的增殖情况和其产生细胞毒性因子的能力, 也可间接证明白癜风患者体内Tregs功能显著下调。

2.3 趋化因子CCL22表达减少: 归巢至皮肤的T淋巴细胞是皮肤免疫系统的主要功能细胞, 在炎症性皮肤病、过敏性皮肤病及皮肤肿瘤中发挥着重要作用^[32]。早期研究证实, 趋化因子CCL22、CCL17和趋化因子受体CCR4具有介导Tregs向皮肤归巢的作用^[33]。Klarquist等^[13]利用免疫酶染色技术分别对白癜风患者外周血和皮肤Tregs含量进行了分析, 证实了白癜风患者外周血中Tregs含量明显高于皮肤, 提示Tregs含量的差异可能为Tregs向皮肤归巢能力降低所致。进一步研究表明, 白癜风患者皮肤中趋化因子CCL22表达减少, 这可能为导致Tregs向皮肤归巢能力受损的首要原因^[34]。

2.4 白癜风患者CTLA-4表达减少: 细胞毒性T淋巴细胞表面抗原-4 (CTLA-4或CD152) 是Tregs的一类特异性抗原, 在介导Tregs活化及诱导对自身抗原的免疫耐受方面有十分重要的作用。研究表明, CTLA-4功能异常会导致包括白癜风在内的几种自身免疫性疾病的产生^[35]。Dwivedi等^[14]证实, 白癜风患者体内的CTLA-4 mRNA含量和可溶性CTLA-4的

分泌水平均有下降, Tregs的免疫抑制功能受到干扰, 而出现CTLA-4的未翻译基因片段CT60GG (rs3087243)。

3 Tregs在白癜风治疗中的应用展望

上述研究表明, Tregs具有维持机体免疫平衡的作用, 其数量减少和功能不良可导致白癜风的产生, 这为白癜风的治疗提供了新思路。

3.1 过继转移iTregs: 根据起源、抗原特异性和效应机制的不同, Tregs可分为自然调节性T细胞 (Nature T regulatory cells, nTregs) 和诱导调节性T细胞 (Induced T regulatory cells, iTregs)。机体内正常发育的nTregs经抗原刺激后即发育为iTregs^[36], 因此, iTregs具有抗原特异性, 这一特性或可应用于靶向治疗。在自身免疫性疾病中, 引入活化的Tregs可诱发机体的免疫抑制效应从而中和过强的免疫反应。由于Tregs数量的减少或功能的异常对白癜风的疾病进展有着重要作用, 通过向机体内引入体外增殖的功能正常且具有特异性抗原的iTregs为治疗白癜风提供了一种潜在可能。研究已证实, 通过过继转移iTregs可抑制狼疮综合征的疾病进展^[37], 在白癜风的治疗中也取得了一定效果。Chatterjee等^[38]利用转基因小鼠进行的实验结果表明, 通过过继转移特异的iTregs, 患有自发性白癜风的小鼠症状得到持续缓解。

3.2 利用诱导产生Tregs的益生菌: 利用微生物和微生物代谢产物预防和治疗异常的免疫反应已获得越来越多的关注。益生菌是指可改善宿主肠内微生态的平衡, 并对宿主有正面效益的活性微生物, 可通过多种机制调节机体免疫稳态, 其中诱导产生Tregs是重要功能^[39]。研究证实, 双歧杆菌属婴儿沙门菌35624可诱导人体分泌IL-10并上调FOXP3的表达^[40]。研究也表明, 三种乳酸杆菌菌株的混合物 (副干酪乳杆菌 DSM 13434、胚芽乳酸杆菌 DSM 15312、胚芽乳酸杆菌 DSM 15313) 可诱导产生FOXP3⁺ Tregs并加强机体分泌IL-10和TGF- β ^[41]。目前, 应用益生菌治疗肠道炎症、过敏性皮炎和风湿性关节炎已取得了一定的治疗效果^[42], 将其应用于白癜风治疗需进一步研究。

3.3 干预FOXP3基因调控网络: FOXP3的稳定表达对于Tregs正常发挥免疫抑制功能有重要作用。针对FOXP3的基因调控网络的干预措施或可应用于自身免疫性疾病的治疗^[43]。虽然目前关于白癜风患者体内介导FOXP3表达的相关基因异常与白癜风患者体内Tregs功能下调关系的研究仍很缺乏, 但已有研究表明FOXP3基因与白癜风易感性有一定的联系^[23]。通过基因测序来对比正常人和体内存在缺陷FOXP3基因的白癜风患者基因序列的不同, 了解这些基因变异与Tregs分化、功能之间的关系, 可帮助我们修正一些白癜风患者突变的FOXP3基因从而根治白癜风, 或调控FOXP3基因促进FOXP3的表达, 上调机体Tregs功能, 最终实现治疗效果。

4 小结

白癜风属于多发病, 社会影响巨大, 但其发病机制复杂、治疗手段局限、治疗效果不佳。近年来对白癜风中免疫稳态的研究表明, Tregs与白癜风的发病密切相关。Tregs数量减少与功能异常导致白癜风患者免疫失衡, 过度活跃的自身反应性T细胞攻击机体内正常存在的黑色素细胞, 造成其进行性功能丧失, 进而造成皮肤色素脱失形成白斑^[9]。鉴于Tregs在白癜风发病中的重要作用, 向患者体内转移功能正常的Tregs来调节失衡的免疫系统, 诱导自身产生Tregs, 以及干预机体基因网络、在分子层面调控Tregs等方法, 都为白癜风的治疗提供了新的思路与展望。然而, 现有研究仍然存在不足, 关于Tregs和CD8⁺T细胞在白癜风疾病进展中相互作用的直接证据仍较缺乏, 白癜风患者体内Tregs发挥作用的具体机制有待阐明, 应用特异性抗原靶向治疗Tregs的方法仍待建立。目前, 针对Tregs及其相关蛋白的功能调控研究已经成为新的热点^[43]。随着研究的深入, 人们终将揭示Tregs异常导致白癜风疾病进展的具体机制, 为应用Tregs治疗白癜风奠定坚实的基础。

[参考文献]

- [1] Alikhan A, Felsten LM, Daly M, et al. Vitiligo: a comprehensive overview Part I. Introduction, epidemiology, quality of life, diagnosis, differential diagnosis, associations, histopathology, etiology, and work-up[J]. J Am Acad Dermatol, 2011, 65(3): 473-491.
- [2] Le Poole IC, Luiten RM. Autoimmune etiology of generalized vitiligo[J]. Curr Dir Autoimmun, 2008, 10: 227-243.
- [3] van den Boorn JG, Konijnenberg D, Dellemijn TA, et al. Autoimmune destruction of skin melanocytes by perilesional T cells from vitiligo patients[J]. J Invest Dermatol, 2009, 129(9): 2220-2232.
- [4] Kaur M, Bagga PK, Kaur T, et al. Evaluation of Histologically and Histochemically Proven Cases of Vitiligo and its Correlation with CD4⁺ and CD8⁺ Lymphocyte Counts using Flow Cytometry[J]. J Clin Diagn Res, 2017, 11(5): EC09-EC12.
- [5] Williams LM, Rudensky AY. Maintenance of the Foxp3-dependent developmental program in mature regulatory T cells requires continued expression of Foxp3[J]. Nat Immunol, 2007, 8(3): 277-284.
- [6] Rudensky AY, Campbell DJ. In vivo sites and cellular mechanisms of T reg cell-mediated suppression[J]. J Exp Med, 2006, 203(3): 489-492.
- [7] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance[J]. Cell, 2008, 133(5): 775-787.
- [8] Zhang P, Côté AL, de Vries VC, et al. Induction of postsurgical tumor immunity and T-cell memory by a poorly immunogenic tumor[J]. Cancer Res, 2007, 67(13): 6468-6476.
- [9] Ben Ahmed M, Zarea I, Rekik R, et al. Functional defects of peripheral regulatory T lymphocytes in patients with progressive vitiligo[J]. Pigment Cell Melanoma Res, 2012, 25(1): 99-109.
- [10] Lili Y, Yi W, Ji Y, et al. Global Activation of CD8⁺ Cytotoxic T