

· 专题综述 ·

# CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 调节性 T细胞在母 胎免疫耐受中的作用

贺银燕 李大金 (复旦大学附属妇产科医院暨妇产科研究所,上海 200011)

中国图书分类号 R392 文献标识码 A 文章编号 1000-484X(2007)04-0374-03

CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>调节性 T细胞 (Regulatory T cell, Treg)是最近被人们认识的一类重要的具有免疫调节功能的 T细胞亚群,其功能障碍可能与自身免疫性疾病密切相关;并且参与维持外周 T细胞内环境稳定;在移植耐受中其也起着关键作用<sup>[1-4]</sup>。近年研究发现,在妊娠的各个时期,母体外周血、蜕膜以及胎儿的脐带血中都有 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg的存在,在母胎免疫调节中发挥重要的作用。本文就目前妊娠中 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg的研究进展作一综述。

## 1 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg

CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg主要来源于胸腺。成熟 T细胞在胸腺中经历阳性选择和阴性选择,对自身 MHC 抗原肽分子的亲和力较高的一群 CD4<sup>+</sup> T细胞被“部分活化”,开始表达 CD25分子并获得其它一些特性,这一特殊的选择途径称为“另类选择”(Altered selection);最新研究显示,这一选择过程是由胸腺髓质中的 Hassall's小体和胸腺 DC细胞共同介导的<sup>[5]</sup>。Hassall's小体能表达胸腺基质淋巴细胞生成素(Thymic stromal lymphopoietin, TSLP), Hassall's小体-TSLP训导的胸腺 DC细胞能诱导胸腺 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T增殖分化为 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup>的调节性 T细胞<sup>[6]</sup>。

CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg有“无能性与免疫抑制性(Anergic and suppressive)两大功能特征。免疫无能性(Anergic)表现在 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg对 L-2 特异性抗原及抗原提呈细胞(APC)的刺激呈低反应状态,但是在高浓度 L-2存在下通过 TCR刺激,可使 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> T细胞活化并增殖(但反应强度远不及 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T细胞)。免疫抑制性表现在经 TCR介导的信号刺激活化以后能够抑制 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup> T细胞的活化和增殖<sup>[7]</sup>。

CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg表达 Foxp3、GITR (Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor family-related genes)、CTLA-4、OX40。Foxp3是 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg特征性表达的重要分子,能促进其分化发育和功能;GITR和 OX40可将 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>从 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup>的细胞中区别开来。同时 GITR能消除 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg的抑制功能,OX40能打破 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg形成的免疫耐受状态,对 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg发挥降调节作用,OX40和 GITR的高表达与 Treg细胞的抑制功能密切相关<sup>[7,8]</sup>。

CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg细胞经特异性抗原刺激而活化,但其抑制 T细胞的活化增殖为非抗原特异性的,不具有 MHC限制性,并且这种抑制作用要依赖细胞-细胞间的相互接触<sup>[9,10]</sup>。

## 2 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup>调节性 T细胞和妊娠

2.1 外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> 孕期 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg绝对数增多,且在整個妊娠期呈现动态变化<sup>[11]</sup>。妊娠期外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg占外周 CD4<sup>+</sup>的 8.9%,比非妊娠女性高 2倍。不同妊娠时期 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg的比例有很大的不同。早孕外周血中的 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg的比例(6.7%)高于非孕女性。随着妊娠的继续,CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg比例不断升高,孕中期随着滋养细胞侵入到蜕膜,该细胞达到峰值(10.9%),以后逐渐下降。产后 6~8周(7.5%)比晚期妊娠(8.9%)明显减少,但仍然高于非妊娠期。

Foxp3在 Treg中选择性表达,CTLA-4 mRNA表达也高于 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup><sup>[12]</sup>。38%~50% CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg表达 CXCR3,且明显高于 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup>,同时表达 CD45RO和 CD45RA,故其表型既呈现记忆性亚群也呈现静息性亚群的特征<sup>[11]</sup>。

妊娠期外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg的数目增加及其重要表面分子的表达,提示 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg细胞在妊娠期参与抑制母体对同种异体移植植物胎儿的排斥反应。CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg细胞的活化需抗原刺激,产后失去胎儿抗原的免疫刺激,则外周血 Treg细胞减少<sup>[11]</sup>。孕妇外周 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg细胞不仅

本文为国家 973计划项目(编号:2006CB944009)

作者简介:贺银燕(1976年-),女,在读博士,主要从事生殖免疫学研究;

通讯作者及指导教师:李大金(1957年-),男,教授,博士生导师,主要从事生殖免疫学研究, E-mail: djli@shmu.edu.cn

抑制母胎免疫排斥,同时也抑制母体自身的免疫反应,很多自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎在孕期趋于缓解<sup>[13]</sup>。

2.2 蜕膜中的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 占早孕蜕膜 CD4<sup>+</sup>的 10%,足月蜕膜的 14%,不同部位的蜕膜分布不同,包蜕膜的细胞比例远高于底蜕膜<sup>[11,14,15]</sup>。

蜕膜 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞高表达 CTLA-4,也表达 GIRR、OX40和 CD69。膜表面 CTLA-4 (CTLA-4s)和细胞内 CTLA-4 (CTLA-4i)比外周血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>细胞的表达量分别高数倍及数十倍;细胞内 CTLA-4i表达量也比 CTLA-4s高数倍<sup>[13,16]</sup>。48% CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>表达 GIRR,而在 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>中仅为 27%;在 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CTLA-4i<sup>+</sup>的细胞亚群中高达 86%<sup>[13]</sup>。CD69为 T细胞早期激活标志,在蜕膜 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的表达也数十倍高于外周血<sup>[13]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CTLA-4i细胞表达 CD69,表明蜕膜的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg是已经活化的 Treg。

滋养细胞能够从蜕膜迁移到子宫肌层,并侵入到母体子宫肌层的螺旋动脉,使胎儿组织直接与蜕膜接触。正常妊娠蜕膜中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg被活化,表达的 CTLA-4远高于外周血,提示蜕膜 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg在蜕膜局部、母胎界面发挥着比外周 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg更重要的免疫调节作用。自然流产蜕膜 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的数量及其 CTLA-4s和 CTLA-4i的表达远远低于正常蜕膜 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg;CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg功能的降低将打破母胎耐受状态,可导致妊娠失败<sup>[16]</sup>。

2.3 脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 在人类脐血和胚胎亦存在着 CD25<sup>high</sup>CD4<sup>dominant</sup>T<sup>[17]</sup>。胎儿在病理状态下 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞比例升高<sup>[18]</sup>。脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg也和外周 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg一样呈动态变化;但不同的是,在孕早期最高,随着孕龄的增加而逐渐下降<sup>[12]</sup>。

脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>细胞是功能成熟的童贞表型 (Näive phenotype) T细胞。脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞在表型和功能上和成人外周 T细胞有明显区别。脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>细胞表达 CD38、CD62L、CD45RA,高表达 CTLA-4;脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 转录的 Foxp3 mRNA 比相应的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞高 100倍,但不转录 GIRR mRNA,故高表达 Foxp3但不表达 GIRR。脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T与成人外周 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞比较,抑制能力有明显的差异。在体外实验中,脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T能抑制 95%的同种异体的混合淋巴细胞反应<sup>[19]</sup>。经 PHA 刺激的脐血

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞比外周 Treg 更能有效地抑制 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T的增殖;脐血比成人外周 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞有更强的免疫抑制作用<sup>[12]</sup>。

人类胎盘是一个不完全的屏障,可溶性抗原和有核细胞可以在胎儿和母体间双向运输。在 20~25周,胚胎胸腺 T细胞通过阳性和阴性选择快速扩增。胚胎自身反应能力在 20周即可检测到<sup>[18]</sup>。胎儿脐血 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞可抑制胎儿针对母体的“移植物抗宿主排斥反应”,诱导和维持胎儿对自身及母体的免疫耐受<sup>[19]</sup>。

### 3 妊娠中 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的调节机制

3.1 E2对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的调节 E2是体内能引起 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞扩增的单一良性信号<sup>[20]</sup>。将自身免疫性脑脊髓膜炎 (EAE)小鼠脾脏分离出的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>Treg细胞,在体外用 E2和 CD3/CD28共同培养 24小时,能够诱导 Foxp3的表达。雌激素受体 ER- (Erl)正常的 EAE小鼠,E2能显著降低 EAE的严重性。Erl基因敲除小鼠即使经过 E2处理也表现出严重的 EAE症状;其 Foxp3和 CD25<sup>+</sup>的表达仍处于较低的水平。将 Näive小鼠用 E2处理 14天后,CD4<sup>+</sup>细胞中 CD25表达显著增加,这些 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>细胞的 Foxp3 mRNA和 Foxp3蛋白也显著增加。因此 E2能促进 Foxp3 mRNA的转录,增加 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的数目、调节其功能。高水平的 E2对于妊娠的维持至关重要,可能与 E2能调节 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg,从而诱导母胎免疫耐受有关。

3.2 DO与蜕膜 DCs对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的调节 色氨酸是细胞维持活化和增殖所必需的氨基酸,同时也是构成蛋白质必不可少的重要成分。吲哚胺 2,3双加氧酶 (Indoleamine 2,3 dioxygenase, DO)是肝脏以外唯一可催化色氨酸沿犬尿酸途径分解代谢的限速酶,在哺乳动物的组织细胞,尤其是淋巴组织和胎盘中广泛表达。DO在胎盘的表达对于保护胎儿免遭母体排斥至关重要<sup>[21]</sup>。对小鼠进行研究发现,抑制 DO活性将导致流产,而且这种流产是 T细胞依赖的<sup>[22]</sup>。DCs产生的 DO能抑制 T细胞的增殖<sup>[23]</sup>。

人蜕膜中主要的抗原递呈细胞是 CD14<sup>+</sup>M,同时也包括一类髓源的不成熟的 DCs<sup>[24,25]</sup>。两者在局部能诱导包括 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>在内的 Treg细胞的分化<sup>[24]</sup>。Treg细胞能通过 CTLA4B7 (CD80/CD86)信号,抑制包括 DCs在内的 APCs的功能<sup>[26-28]</sup>;但却能诱导 DCs分泌 IFN-,继而诱导 DCs表达 DO,促进色氨酸的代谢<sup>[29]</sup>。在蜕膜局部,蜕膜 DC与

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg形成了一个相互调节的网络,通过DO途径调节母胎免疫耐受。

**3.3 趋化因子及其受体对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞调节作用** 蜕膜 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg表达趋化因子受体 CCR4,CCR8,胎盘 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg也表达 CCR4,分泌 CCL17 (TARC),CCL17 (TARC)能介导 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg在母胎界面的富集<sup>[30]</sup>。因此母胎界面表达的趋化因子及其受体能募集 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg到达母胎界面,但其作用及机制还需要进一步研究。

## 4 结语与展望

作为体内重要的具有免疫调节功能的 T细胞亚群,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的分类、表面标志和表面标志的作用机制还不明确,并且存在争议。但可以肯定的是,CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg在调节免疫耐受起着至关重要的作用。近年发现,活化的非抑制功能的效应性 CD4<sup>+</sup>也表达 CD25<sup>+</sup>,更增加了 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg研究的复杂性。妊娠期母体对“同种半异体移植胎儿耐受,一直是人们困惑和感兴趣的研究领域。目前研究表明 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg参与母胎免疫这一自然的耐受现象。进一步研究探讨 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg在母胎局部的富集以及与母胎局部 APCs相互作用及其调节母胎免疫的机理,将有助于完善极为复杂的母胎调节网络,更有助于临床对妊娠并发症的理解和处理。对这一领域的研究也将大大有利于解析移植、自身免疫疾病发生的机理,对器官移植和自身免疫疾病的治疗亦可提供新的认识和策略。

## 5 参考文献

- Singh B, Read S, Asseman C *et al* Control of intestinal inflammation by regulatory T cells [J]. *Immunol Rev*, 2001; 182: 190-200.
- Pontoux C, Banz A, Papiemik M. Natural CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells control the burst of superantigen-induced cytokine production: the role of L-10 [J]. *Int Immunol*, 2002; 14(2): 233-239.
- Roncarolo M G, LeVings M K. The role of different subsets of T regulatory cells in controlling autoimmunity [J]. *Curr Opin Immunol*, 2000; 12(6): 676-683.
- Kingsley C I, Karim M, Bushell A R *et al* CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4 and L-12 dependent immunoregulation of alloresponses [J]. *J Immunol*, 2002; 168(3): 1080-1086.
- Jordan M S, Boesteanu A, Reed A J *et al* Thymic selection of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells induced by an agonist self-peptide [J]. *Nat Immunol*, 2001; 2(4): 301-306.
- Norihiko Watanabe, Yi-Hong Wang, Heung Kyu Lee. Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in human thymus [J]. *Nature*, 2005; 435(8): 1181-1185.
- Shevach EM, McHugh P S, Piccirilli C A *et al* Control of T cell activation by CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> suppressor T cells [J]. *Immunol Rev*, 2001; 182: 59-67.
- Bansal-Pakala P, Jember A G, Croft M. Signaling through OX40 (CD134) breaks peripheral T cell tolerance [J]. *Nat Med*, 2001; 7: 907-912.
- Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T *et al* Stimulation of CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance [J]. *Nat Immunol*, 2002; 3: 135-142.
- Fontenot J D, Gavin M A, Rudensky A Y. Foxp3 programs the development and function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells [J]. *Nat Immunol*, 2003; 4: 330-336.
- Somerset D A, Zheng Y, Kilby M D *et al* Normal human pregnancy is associated with an elevation in the immune suppressive CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T-cell subset [J]. *Immunology*, 2004; 112: 38-43.
- Takahata Y, Nomura A, Takada H *et al* CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> T cells in human cord blood: an immunoregulatory subset with naive phenotype and specific expression of forkhead box p3 (Foxp3) gene [J]. *Exp Hematol*, 2004; 32(7): 622-629.
- Cortes-Hernandez J, Ordi-Ros J, Paredes F *et al* Clinical predictors of fetal and maternal outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of 103 pregnancies [J]. *Oxford: Rheumatology*, 2002; 41(6): 643-645.
- Heikkinen J, Mottonen M, Alanen A *et al* Phenotypic characterization of regulatory T cells in the human decidua [J]. *Clin Exp Immunol*, 2004; 136(2): 373-378.
- Aliana P, Sindram-Trujillo, Sicco A *et al* Comparison of decidual leukocytes following spontaneous vaginal delivery and elective cesarean section in uncomplicated human term pregnancy [J]. *J Reproductive Immunology*, 2004; 62: 125-137.
- Sasaki Y, Sakai M, Miyazaki S *et al* Decidual and peripheral blood CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in early pregnancy subjects and spontaneous abortion cases [J]. *Molecular Human Reproduction*, 2004; 10(5): 347-351.
- Han P, Hodge G, Story C *et al* Phenotypic analysis of functional T lymphocyte subtypes and natural killer cells in human cord blood: relevance to umbilical cord blood transplantation [J]. *Br J Haematol*, 1995; 89: 733-740.
- Byrne J A, Stankovic A K, Cooper M D. A novel subpopulation of primed T cells in the human fetus [J]. *J Immunol*, 1994; 152: 3098-3106.
- Godfrey W R, Spoden D J, Ge Y G *et al* Cord blood CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>-derived T regulatory cell lines express FoxP3 protein and manifest potent suppressor function [J]. *Blood*, 2005; 105(2): 750-758.
- Polanczyk M J, Carson B D, Subramanian S *et al* Cutting edge: estrogen drives expansion of the CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cell compartment [J]. *J Immunol*, 2004; 173(4): 2227-2230.
- 朱晓勇, 李大金. 咪唑胺 2, 3 双加氧酶 (DO) 的免疫调节作用 [J]. *现代免疫学*, 2004; 24(4): 349-351.
- Mellor D H, Sivakumar J, Chandler P *et al* Prevention of T cell-driven complement activation and inflammation by tryptophan catabolism during pregnancy [J]. *Nat Immunol*, 2001; 2: 64-68.
- Munn D H, Shama M D, Lee J R *et al* Potential regulatory function of human dendritic cells expressing indoleamine 2, 3-dioxygenase [J]. *Science*, 2002; 297: 1867-1870.
- Heikkinen J, Mottonen M, Komij J *et al* Phenotypic characterization of human decidual macrophages [J]. *Clin Exp Immunol*, 2003; 131: 498-505.
- Gardner L, Moffet A. Dendritic cells in the human decidua [J]. *Biol Reprod*, 2003; 69: 1438-1446.
- Grohmann U, Orabona C, Fallarino F *et al* CTLA-4 Ig regulates tryptophan catabolism in vivo [J]. *Nat Immunol*, 2002; 3: 1097-1101.
- Cederbom L, Hall H, Ivars F. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg cells down-regulate co-stimulatory molecules on antigen presenting cells [J]. *Eur J Immunol*, 2000; 30: 1538-1543.
- Finger E B, Buestone J A. When ligand becomes receptor-tolerance via B7 signaling on DCs [J]. *Nat Immunol*, 2002; 3: 1056-1057.
- Fallarino F, Grohmann U, Hwang K W *et al* Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells [J]. *Nat Immunol*, 2003; 4: 1206-1212.
- Tsuda H, Michinata T, Hayakawa S *et al* A Th2 chemokine, TARC, produced by trophoblasts and endometrial gland cells, regulates the infiltration of CCR4<sup>+</sup>T lymphocytes into human decidua at early pregnancy [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2002; 48: 1-8.

[收稿 2006-01-08]

(编辑 许四平 张晓舟)