

# 人胸腺基质淋巴细胞生成素 (hTSLP)的结构与免疫调节作用

郭培奋 贺银燕 综述 李大金 审校 (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 R392.11 文献标识码 A 文章编号 1000-484X(2008)02-0191-03

TSLP是1994年被发现的一种细胞因子,它主要由上皮细胞表达,其生物学作用尚未充分阐明。近来对其研究集中于过敏性皮炎与哮喘的发病机制中,本文拟综述这方面的研究进展。

## 1 TSLP的结构

TSLP由A、B、C、D 4个螺旋束组成。hTSLP有2种同型异构体:同型异构体含159氨基酸(aa),信号肽为28aa,成熟蛋白131aa,内含6个Cys(形成3个二硫键)和2个N连接糖基化部位(64~66位aa残基和119~121位aa残基)。同型异构体含60aa。人与小鼠TSLP(mTSLP)氨基酸序列同源性为43%。hTSLP基因定位于5q21.3。hTSLP mRNA变异体长1394 bp, poly(A)信号位于1377~1382 bp上;变异体长1135 bp, poly(A)信号位于1128~1133 bp。但人睾丸TSLP cDNA长740 bp。hTSLP与mTSLP cDNA 56%核苷酸同源。

人上皮细胞和肥大细胞都能产生TSLP。人TSLP mRNA高水平表达于心、肝、睾丸、前列腺;肺、骨骼肌、肾、脾、卵巢、小肠和结肠低水平表达。实时定量PCR分析表明, mAbs交联高亲和力IgE受体活化的肥大细胞,经L-4、L-13和TNF-或L-1刺激支气管平滑肌细胞和皮肤角质细胞,能高水平表达hTSLP mRNA,但大多数造血细胞包括B细胞、T细胞、NK细胞、粒细胞、巨噬细胞(M)、单核细胞亚群和一些树突状细胞(DC)亚群以及内皮细胞都不表达hTSLP mRNA<sup>[1,2]</sup>。

## 2 TSLP的受体

人TSLP受体(hTSLPR)mRNA全长1579 bp,含一个由371aa组成的开放读框,有一个跨膜区,为型跨膜蛋白,属于造血细胞因子受体家族。TSLP促进急性髓细胞样白血病(AML)细胞系MUTZ-3增

殖;抗-L-7R抗体可以中和其增殖,提示TSLP受体复合物含有L-7R。研究证明,功能性TSLPR复合物是由TSLPR和L-7R组成。TSLP与L-7具有交叉生物学功能,如均能促进B细胞成熟。TSLP与特异受体TSLPR(与细胞因子共同链结构类似,同源性24%)亲和力较弱,与L-7R亲和力较高<sup>[3]</sup>。hTSLPR的结构中,保留了造血细胞因子受体家族成员中的4个Cys中的2个,胞外结构域含有类似WSXW S模体的WSEVT,近膜端富含亲水氨基酸与脯氨酸,含保守PxP基序,C末端含有YX-XL,其中Tyr残基能结合Src同源区域2(SH2),为激活Stat5所必需。hTSLPR与L-7R主要共表达于单核细胞(Monocyte, Mo)与活化的DC,其它淋巴细胞(如B、T、NK、中性粒细胞与肥大细胞)表达则较少。

## 3 介导TSLP作用的信号途径

只有将两种受体亚单位(TSLPR和L-7R)同时转染给Ba/F3细胞系,经hTSLP刺激才能使其增殖,并诱导Stat3与Stat5的磷酸化<sup>[1]</sup>。TSLP可以诱导表达功能性TSLP受体的人DC和单核细胞内Stat3和Stat5磷酸化。TSLP使NAG8/7与kN/2B两种细胞系中Stat5的酪氨酸磷酸化程度相当,并促前者增殖;TSLP或L-7均促使后者胞浆Stat5磷酸化,但不能促进kN/2B细胞系(L-7依赖,起源于骨髓的pre-B细胞,与TSLP亲和力高)的增殖,表明TSLP与常见的细胞因子的信号通路不同。TSLP引起Stat5磷酸化时没有Jak的激活,ERK1/2与p70S6K信号通路均未参与,也不依赖经典的NF- $\kappa$ B与MyD88信号通路<sup>[4]</sup>。

TSLPR胞浆酪氨酸残基对于TSLP调节的细胞增殖十分重要,但对于Stat5的活化则非必需。给予Src家族酪氨酸激酶抑制剂PPI, TSLP引起的细胞增殖受抑制,但Stat5的磷酸化未受影响。故TSLP活化Stat5并不足以使靶细胞增殖,但TSLPR复合物中酪氨酸磷酸化对于调节下游事件是必需的<sup>[5]</sup>。

虽然TSLP与L-7具有交叉活性,两者之间仍存在诸多不同。TSLPR基因敲除鼠淋巴细胞数量正

作者简介:郭培奋(1974年-),男,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

常, TSLPR/ 双基因敲除鼠淋巴细胞缺陷则较单纯缺失严重, 表明 TSLP 促淋巴细胞生成并不依赖于 L-7<sup>[6]</sup>。尽管二者均诱导 Stat5 的酪氨酸磷酸化, 但 L-7 调控的信号转导与 Jak 的激活有关。由于细胞因子刺激后 Stat5 磷酸化通常受 Jak 的调节, TSLP 处理后却缺少 Jak 的活化, 提示 Stat5 的酪氨酸磷酸化可能没有特殊的生物学意义。显然, 有关 TSLP 发挥生物学功能的信号通路, 需进一步研究、探索。

## 4 hTSLP 的生物学作用

### 4.1 hTSLP 通过活化 DC, 间接促进胸腺 Treg 的分化

hTSLP 只能激活 DC 细胞, 从而促进 T 细胞, 而非 B 细胞的发育。hTSLP 促进不成熟树突状细胞的成熟, 表达成熟的 DC 特异性抗原 LAMP。hTSLP 需要经 DC 的调节, 间接发挥诱导 Treg 细胞的作用<sup>[1,2]</sup>。Wantanabe 等<sup>[7]</sup>发现, 19 周以上胎龄的胎儿与 2 周岁小儿胸腺 Hassall's 小体上皮细胞表达 TSLP, TSLP 激活的 DC 诱导胸腺 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup> 扩增, 并分化为 FoxP3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg; 而 TSLP-DC 促进胸腺 natural CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 细胞扩增的能力则较弱。该过程依赖抗原肽-MHC 分子相互作用以及 CD80、CD86 与 L-2 的存在。然而, 对于外周血 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup> 细胞, TSLP-DC 虽然促使其扩增, 但不能使其分化为 FoxP3<sup>+</sup> Treg; 经 L-2、anti-CD3、anti-CD28 三者共同刺激外周血 Naive T 细胞或胸腺 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup> 后, 被刺激细胞只扩增, 不分化、不表达 FoxP3。因此, Hassall's 小体在 DC 细胞参与调节的自身反应性 T 细胞的二次阳性选择中发挥着重要作用, 并由胸腺上皮细胞分泌的 TSLP 介导。

对于鼠的研究发现, mTSLP 促使 2 天龄鼠胸腺细胞中 FoxP3 的转录与翻译, 促进 FoxP3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 的成熟<sup>[8]</sup>。鼠胸腺 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>-</sup> 或 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> 在 1~2 天龄时不表达 FoxP3, 此时的 CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>CD25<sup>+</sup> 没有调节活性; 直到 3~4 天龄上述细胞才表达 FoxP3 并显示调节功能。FoxP3<sup>+</sup> 胸腺细胞与分泌 TSLP 胸腺上皮细胞都位于髓质, 因此推测 mTSLP 是通过与鼠胸腺细胞直接接触而促进其分化成熟的<sup>[6,8]</sup>。

### 4.2 hTSLP 诱导的 DC 营造 Th2 型微环境

上皮细胞产生的 hTSLP 是一种独特的 DC 刺激原 (主要刺激外周血 CD11c<sup>+</sup> DC), 使 DC 细胞 HLA-DR 和协同刺激分子 CD86 的表达轻微增加, 而 CD40 和 CD80 的表达明显增加<sup>[7,9]</sup>; 后者与 CD11c<sup>+</sup> DCs TSLPR mRNA 水平呈正相关。hTSLP 诱导 DC 产生

趋化 CD4<sup>+</sup> Th2 型细胞的趋化因子, 如 CCL17 (又称胸腺和激活可调节趋化因子, TARC)、CCL22 (又称巨噬细胞源的趋化因子, MDC), CCL17 与 CCL22 均是 CCR4 的配体, 从而优先趋化表达 CCR4 的 Th2 型细胞到达炎症部位, 而不是产生促炎细胞因子如 L-1、L-6、L-12 p40 及 TNF I 类分子<sup>[2]</sup>。单核细胞受 hTSLP 刺激亦产生 CCL17, 但表达量不及 CD11c<sup>+</sup> DCs 产生的十分之一<sup>[9]</sup>。其它 DC 刺激原, 如 CD40L、TLR 的配体如 LPS 及 poly I:C, 虽然亦促进 DC 协同刺激分子的表达, 但刺激的 DC 分泌大量 L-12、TNF- 与 L-1 等 Th1 型细胞因子。

TSLP 促进髓系 DC 成熟而不分泌 Th1 型细胞因子的分子机制尚不清楚, 其激活信号可能不依赖 NF- $\kappa$ B 与 MyD88, 二者对于 Th1 型刺激原是必需的。由于 TSLP 激活髓细胞内 Stat5; 但 Stat5 的上、下游信号分子仍不清楚<sup>[1,5]</sup>。

OX40L 是 TSLP 诱导过程中起作用的关键分子。OX40L 属于 TNF 超家族成员, hTSLP 能够刺激 DCs 分泌 OX40L, TSLP 诱导 DC 表达的膜 OX40L 在 12 小时内可检出, TSLP 作用后 48~72 小时达峰值。TSLP-DCs 表达的 OX40L 对于 Naive T 细胞表达 L-4、L-5 及 L-13 是必需的; 添加 L-12 则使 OX40L 丧失极化 Th2 型细胞的能力; 然而, L-12 诱导的 Th1 反应可以被外源 OX40L 所逆转, 表现为 TNF- 的分泌增强; 而 L-10 分泌受抑制。因此 OX40L 是 TSLP-DCs 诱导 Th2 型炎症反应的极性信号<sup>[10,11]</sup>。

### 4.3 hTSLP-DC 启动 Th2 型过敏性疾病

过敏性疾病是一个瀑布样发作的免疫过程。传统研究集中于效应阶段, 即 B 细胞发育为分泌 IgE 的浆细胞与肥大细胞被活化并脱颗粒, 分为 Th2 型细胞因子失调急性期与 IFN-、细胞毒性细胞数量增多的慢性损伤期, 并且慢性期仍维持高 Th2 型细胞因子水平。

TSLP 诱导 DC 对 Th2 型反应的异常调节, 表现在以下几方面: TSLP 表达于过敏原入侵处的上皮细胞; 过敏性皮炎中, 皮炎局部角质化细胞高表达 TSLP, 但其他类型的皮肤炎症与正常皮肤则不表达<sup>[2]</sup>; TSLP mRNA 表达于肥大细胞, 与 IgE 结合时表达上调; TSLP-DC 诱导 CD4<sup>+</sup>与 CD8<sup>+</sup> T 细胞的产生, 高水平分泌 L-5、L-13, 中度 L-4, 几乎不分泌 L-10 与 IFN-, 呈现一种特殊的 Th2 型细胞因子谱<sup>[2]</sup>。这种细胞因子谱与哮喘患者体内的细胞因子水平完全一致, 特别是 TNF- 高水平, L-10 极低或无<sup>[12]</sup>。因此认为, 上皮细胞与基质细胞产生的 TSLP 是这种过敏反应瀑布样发作的起始因子。其

作用的模式是, TSLP活化的 DC随淋巴循环到达局部淋巴结, 在此处训导 Naïve T细胞分化为 Th2型细胞, 这些过敏原特异的 Th2型细胞随后被趋化因子 TARC、MDC趋化至过敏性部位而发生损害。

哮喘患者气管上皮细胞表达的 TSLP、CCL17、CXCL10明显高于正常人, 其中粘膜下层、纤维蛋白溶酶阳性的肥大细胞是 TSLP与趋化因子的主要来源。哮喘患者选择性 CD4<sup>+</sup>CCR4<sup>+</sup>T细胞在活检组织中的浸润程度与 CCL17、CCL22的表达水平、气道阻力正相关<sup>[13]</sup>。这提示 TSLP、CCL17、CCL22、CXCL10在哮喘病因中的作用, 可能与特异募集表达这些受体的 Th2型细胞 (非 Th1型细胞), 并使之局部驻留与发育有关。

TSLP转基因鼠易受特异抗原诱导而发生哮喘, 而 TSLP受体敲除的鼠症状则明显减轻。动物实验表明, TSLP对于气道过敏反应的发生是必需的<sup>[14]</sup>。肺特异性抗原诱导 TSLP转基因鼠产生的气道炎症与高反应性, 特征性地出现大量 Th2型细胞因子与局部高水平 IgE含量, 并且髓系 DC被激活、产生 CCL17。

TSLP活化的 DCs诱导 Naïve CD4<sup>+</sup>T细胞分泌 L-4、L-5、L-13, 高水平表达 TNF-<sup>-</sup>, 但不表达 L-10, 呈一种特殊的 Th2型细胞因子谱。基于在过敏性疾病中 TSLP-DC所诱导的 Th2型细胞因子为 TNF-<sup>++</sup>L-10<sup>-</sup>, 故 Tomoki等认为, 可将 CD4<sup>+</sup>Th2型细胞分为 TNF-<sup>+/-</sup>L-10<sup>+</sup>传统型与 TNF-<sup>++</sup>L-10<sup>-</sup>炎性型两种亚型, 而 OX40L则是前一亚型向后一亚型转换所必需<sup>[15]</sup>。

**4.4 hTSLP-DC维持免疫平衡, 避免肠道自身免疫疾病** 在平衡肠道共生菌与有害病原体之间免疫状态的生理过程中, TSLP起着重要作用。表达 TSLP的肠道上皮可以训导局部浆细胞源 DC, 形成一种“非炎症性”DC, 分泌 L-10、L-6, 但不分泌 L-12, 被训导的 DC促进 Naïve T细胞分化为经典的 Th2型细胞。它们即使再受细菌刺激仍然不能转变为 Th1型细胞。Crohn病患者肠道上皮细胞不表达 TSLP, 以致局部 DC不能被诱导成非炎症状态, 平衡被打破而发病<sup>[16]</sup>。

## 5 结语

由于 TSLP能促进鼠、人类 T细胞的发育, 特别是近来发现 hTSLP在胸腺中促进了 FoxP3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg的分化与发育; 而在过敏性疾病的发病上游它又起着关键作用, 其生物学功能引起人们的关注。与鼠不同的是, 上述功能发挥, 需要预先激活

DC, 因此它对于胸腺中 T细胞的发育是间接起作用的; 过敏原刺激上皮细胞后, 分泌 TSLP而激活的 DC, 后者分泌过敏疾病特殊的 Th2型细胞因子前出现临床症状。然而, 关于 TSLP发挥相应作用所通过的信号途径, 目前并不清楚, 需要进一步探索与研究。

## 6 参考文献

- 1 Reche P A, Soumelis V, Gorman D M *et al* Human thymic lymphopoietin preferentially stimulates myeloid cells [J]. *J Immunol*, 2001; 167(1): 336-343.
- 2 Soumelis V, Reche P A, Kanzler H *et al* Human epithelial cells trigger dendritic cell mediated allergic inflammation by producing TSLP [J]. *Nat Immunol*, 2002; 3(7): 673-679.
- 3 Levin S D, Koelling R M, Friend S L *et al* Thymic stromal lymphopoietin: a cytokine that promotes the development of I $\mu$ M<sup>+</sup>B cells In vitro and signals via a novel mechanism [J]. *J Immunol*, 1999; 162(2): 677-683.
- 4 Quentmeier H, Drexler H G, Fleckenstein D *et al* Cloning of human thymic stromal lymphopoietin (TSLP) and signaling mechanisms leading to proliferation [J]. *Leukemia*, 2001; 15(8): 1286-1292.
- 5 Isaksen D E, Baumann H, Zhou B H *et al* Uncoupling of proliferation and Stat5 activation in thymic stromal lymphopoietin-mediated signal transduction [J]. *J Immunol*, 2002; 168(7): 3288-3294.
- 6 Amin A S, Rosanne S, John K *et al* A role for thymic stromal lymphopoietin in CD4<sup>+</sup>T cell development [J]. *J Exp Med*, 2005; 202(6): 829-839.
- 7 Watanabe N, Wang Y H, Lee H K *et al* Hassall's corpuscles instruct dendritic cells to induce CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in human thymus [J]. *Nature*, 2005; 436(7054): 1181-1185.
- 8 Qi J, Hua S, Geoffrey K *et al* Delayed functional maturation of natural regulatory T cells in the medulla of postnatal thymus: role of TSLP [J]. *BMC Immunol*, 2006; 7(6): 1-14.
- 9 Watanabe N, Soumelis V, Hanabuchi S *et al* Human thymic lymphopoietin promotes dendritic cell-mediated CD4<sup>+</sup>T cell homeostatic expansion [J]. *Nat Immunol*, 2004; 5(4): 426-434.
- 10 Tomoki I, Wang Y H, Duramad O *et al* TSLP-activated dendritic cells induce an inflammatory T helper type 2 cell response through OX40 ligand [J]. *J Exp Med*, 2005; 202(9): 1213-1223.
- 11 Watanabe N, Hanabuchi S, Marbois-Provost M A *et al* Human TSLP promotes CD40 ligand-induced L-12 production by myeloid dendritic cells but maintains their Th2 priming potential [J]. *Blood*, 2005; 105(12): 4749-4751.
- 12 Shah A, Church M K, Holgate T. Tumor necrosis factor alpha: a potential mediator of asthma [J]. *Clin Exp Allergy*, 1995; 25: 1038-1044.
- 13 Ying S, Brian O C, Rnjatoff J *et al* Thymic stromal lymphopoietin expression is increased in asthmatic airways and correlates with expression of Th2-attracting chemokines and disease severity [J]. *J Immunol*, 2005; 174(12): 8183-8190.
- 14 Zhou B H, Comeau M R, Smelt T D *et al* Thymic stromal lymphopoietin as a key initiator of allergic airway inflammation in mice [J]. *Nat Immunol*, 2005; 6(10): 1047-1053.
- 15 Liu Y J. Thymic stromal lymphopoietin: master switch for allergic inflammation [J]. *J Exp Med*, 2005; 174(5): 1-5.
- 16 Rimoldi M, Chieppa M, Salucci V *et al* Intestinal immune homeostasis is regulated by the crosstalk between epithelial cells and dendritic cell [J]. *Nat Immunol*, 2005; 6(5): 507-514.

[收稿 2006-12-05 修回 2007-05-14]  
(编辑 张晓舟)