

· 综 述 ·

T 淋巴细胞在腹主动脉瘤发病机制中的作用

王威, 李方达, 聂皓, 郑月宏*

(中国医学科学院北京协和医院血管外科, 北京 100730)

【摘 要】 腹主动脉瘤(AAAs)是一个死亡率很高的医学难题,了解 AAAs 的发病机制有重大意义。AAAs 的一个重要特征是细胞壁中巨噬细胞、中性粒细胞和淋巴细胞广泛浸润。大量研究证实了 T 淋巴细胞与 AAAs 发病密切相关,但它们在疾病进展中的作用仍不够清晰。本文阐述了 T 淋巴细胞在 AAAs 发病机制中的可能作用,对这种目前仍缺乏有效药物干预的疾病提供有效的药物治疗策略。

【关键词】 腹主动脉瘤;免疫反应;T 淋巴细胞;炎症;综述文献

【中图分类号】 R543.16;R322.121 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.10.178

Role of T lymphocytes in pathogenesis of abdominal aortic aneurysm

WANG Wei, LI Fang-Da, NIE Hao, ZHENG Yue-Hong*

(Department of Vascular Surgery, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China)

【Abstract】 Abdominal aortic aneurysms (AAAs) is a medical problem with high mortality rate, and so it is of great significance to understand its pathogenesis. One of main characteristics of the disease is extensive infiltration of macrophages, neutrophils and T-lymphocytes. Much evidence has confirmed that T lymphocytes are closely associated with the pathogenesis, but their role in the progression remains unclear. This article reviewed the possible roles of T lymphocytes in the pathogenesis of AAAs, and provided effective drug treatment strategies for the disease which still lacks of effective drug intervention.

【Key words】 abdominal aortic aneurysm; immune response; T lymphocytes; inflammation; review

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81470586).

Corresponding author: Zheng Yue-Hong, E-mail: yuehongzheng@yahoo.com

腹主动脉瘤(abdominal aortic aneurysms, AAAs)动脉壁中层和外膜涉及一系列炎性细胞浸润,主要有巨噬细胞(macrophage, m ϕ)和淋巴细胞,同时伴有少量肥大细胞和中性粒细胞^[1]。促炎症转录因子的表达增强和激活使 AAAs 显著异于动脉粥样硬化动脉瘤。在研究 AAAs 组织及外周血 T 淋巴细胞、杀伤(killer, K)细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞的分布时,发现 T 淋巴细胞为主要族群^[2]。T、B 淋巴细胞的出现提示在 AAAs 的形成和发展过程中,存在抗体介导的体液免疫和(或)自身免疫。

1 T 淋巴细胞的激活

AAAs 组织中, T、B 淋巴细胞表现出独特的黏附分子谱,从而使其拥有“自导引性质”(homing

properties),显著不同于外周血淋巴细胞的特点。表达在动脉壁基质细胞上的 CXCL12 细胞因子受体对 AAAs 浸润性 T 淋巴细胞受体 CXCR4 有趋化作用,提示 CXCL12 可能与 T 淋巴细胞募集有关^[3]。

AAAs 中 T 淋巴细胞表面表达两种 T 淋巴细胞激活标志物 CD69 和部分 DR, B 淋巴细胞表达激活标志物 CD65 和 CD82,提示 AAAs 中淋巴细胞的激活是由内源性和(或)外源性抗原引起。AAAs 组织中包含单克隆增殖的 T 淋巴细胞,支持了 AAAs 是特殊的抗原驱动的、T 淋巴细胞介导的自身免疫疾病这一理论^[4]。

2 T 淋巴细胞的分类

成熟 T 淋巴细胞是高度不均一的细胞群体,有多种多样的分类系统。根据其表面标志物和功能特

点,可分为不同亚群。根据 T 细胞表面 CD4 和 CD8 分子表达,可分为 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞, CD4⁺ T 细胞按功能可进一步分为辅助性 T 细胞(Th)或效应 T 细胞(Teff),包括 Th1、Th2 和 Th17 细胞和调节性 T 细胞亚群(即调节性 T 细胞, Tregs)。CD4⁺ T 细胞是被最广泛研究的 T 细胞类型,大量研究结果揭示了其与 AAAs 密切相关。

3 T 淋巴细胞的功能

T 淋巴细胞产生的一系列细胞因子可对炎症过程、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)和其他降解基质的蛋白酶产生显著影响^[5],其所介导的过程主要发生在 AAAs 的启动和早期,研究最多的是 Th1 产生的 IFN- γ 和 Th2 产生的 IL-4,它们有诱导中层平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)凋亡、调节 m ϕ 表达 MMPs 等功能,进而破坏动脉壁结构。

3.1 Th1

动物模型和人体研究均表明 AAAs 中存在 Th1 介导的免疫反应及相关细胞因子^[6]。人类 AAAs 中,相较于产生 IL-4 的 Th2 细胞,表达高水平 IFN- γ 的 Th1 细胞可能占主导作用,IFN- γ mRNA(而非 IL-4)和动脉壁免疫反应的 Th1 极化转录因子 T-bet 亦高度表达^[7]。在 IFN- γ ^{-/-}小鼠中,IFN- γ 的减少可阻止动脉瘤的形成及 MMPs 的表达,而对 IFN- γ ^{-/-}小鼠注射 IFN- γ 或其等效物后可重建 AAAs。体外研究发现,IFN- γ 可诱导 m ϕ 产生 MMP-9、VSMCs 产生 MMP-2,进而促进动脉壁细胞外基质的降解^[8]。Yan 等^[9]发现,激活的树突状细胞(dendritic cells, DCs)可通过释放 I 型 IFNs 刺激 T 淋巴细胞释放 IFN- γ ,进而促进 AAAs 中的炎症反应,因此,DCs 可能对 T 淋巴细胞功能的维持具有重要的作用。

Th2 介导的免疫反应在人类 AAAs 中亦起重要作用,其产生的细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-10 和 AS 组织相比,水平显著增高。而 AAAs 组织仅包含低水平的 Th1 特征性细胞因子 IL-2 和 IL-15,且无 IFN- γ 受体,而这些细胞因子在闭塞性损害疾病中高度表达,该疾病亦包含 IFN- γ 诱导的细胞因子 IL-12 和 IL-18 的成熟形式。因此,Th2 介导的免疫反应可能促使动脉粥样硬化样损害朝向 AAAs 发展^[10]。亦有研究发现,T、B 淋巴细胞减少可增加 Ang II 诱导的雄鼠动脉瘤的发生,但对 Apo E^{-/-}小鼠 AAAs 的形成并无影响^[11]。

3.2 Th2

有研究指出,Th2 在人类 AAAs 中是占主导作

用的免疫因子,并表达 Th2 相关的一系列细胞因子 IL-4、IL-5 和 IL-10 等^[10]。

在 Ang II 诱导小鼠 AAAs 中,Th2 相关细胞因子 IL-5 和 IL-10 表达增高,IL-5 可上调小鼠 VSMCs 表达 MMP-2 和 MMP-9,抑制 IL-5 的表达后可阻止 AAAs 形成^[12]。一项引起广泛关注的研究中,分别将鼠类动脉异体移植入野生型(wild type, WT)和 IFN- γ 受体缺乏型(glucocorticoid receptor knock-out, GRKO)体内,结果发现,WT 动脉只有内膜增生样改变,而 GRKO 形成了严重的 AAAs,并伴随 MMP-9 和 MMP-12 显著升高。当对 GRKO 运用抗 IL-4 抗体特异性阻断 Th2 产生的 IL-4、或使 GRKO 先天缺乏 IL-4 后,均没有形成 AAAs,并表现出减弱弹性蛋白和胶原蛋白降解活性的作用。在 AAAs 形成过程中,移植动脉中主要浸润的炎症细胞为 m ϕ ,并且发现 IL-4 可增加,而 IFN- γ 可减少 m ϕ 中 MMP-12 mRNA 表达。该发现证实了 IL-4 是 AAAs 形成的重要刺激物,并提示 IFN- γ 可减弱弹性蛋白和胶原蛋白降解活性,而对 AAAs 的形成起保护作用。这些结果对动脉瘤疾病的发病机制提供了新的研究视角,并提示 IL-4 阻滞剂或 IFN- γ 激活剂可能抑制动脉瘤的形成或扩张^[13]。

然而,亦有研究发现,人类 AAAs 中 Th2 表达的相关细胞因子 IL-4 和 IL-10 可抑制 m ϕ 中的 MMP-9 的表达,IL-4 亦可抑制人类肺泡 m ϕ 产生 MMP-1 和 MMP-9,并能刺激细胞外基质蛋白的合成,这提示 Th2 免疫反应可能对 AAAs 的形成和进展起保护作用^[14]。

人们对 AAAs 中 Th1 和 Th2 免疫反应起的作用也表现出不同的认识,这可能提示 Th1 和 Th2 之间的平衡态在 AAAs 发病机制中起重要作用。迥异的结果可能与诱导方式、动物模型、测量方式或获取的人类 AAAs 样本所处病理状态的差异等原因有关。

3.3 Th17

Th17 是辅助性 T 细胞亚群的一种,可分泌细胞因子 IL-17。IL-17 有 6 种已知的形式,分别为 IL-17A 至 IL-17F^[15]。IL-17 对炎症反应和细胞凋亡有显著影响^[16]。在人类 AAAs 中有 IL-17 的高表达^[17,18]。

维甲酸孤儿受体 γ t(ROR γ t)是调控 Th17 浸润和扩增的主要转录因子,地高辛和其他类似物可选择性阻断 ROR γ t 活性,进而抑制 Th17 浸润和 IL-17A 生成^[19-21]。在人类 AAAs 中,IL-17A 和 ROR γ t 的表达显著升高,而地高辛在 Ang II/Apo E^{-/-}小鼠模型上可减少 AAAs 的发生率及局部炎症细胞浸润,

并可抑制炎症介质和 MMPs 表达,因此间接证明 IL-17A 相关的炎症反应在 AAAs 发病机制中可能起推动作用^[17]。有研究发现,人类 AAAs 中高表达 IL-17 和 IL-23。相比较 WT,弹性蛋白酶注射诱导的 IL-17^{-/-} 和 IL-23^{-/-} 小鼠 Th17 浸润、细胞因子和动脉直径均显著减少,Th17 可凭借 IL-17 在 AAAs 发病机制中起重要作用,而胎盘间叶干细胞治疗可抑制淋巴细胞的活性,减少 IL-17 产生和 AAAs 的形成^[18]。

然而, Madhur 等^[22] 发现,对比 Apo E^{-/-} 和 IL-17/Apo E^{-/-} 小鼠,AAAs 形成情况并无显著差异。T 淋巴细胞中细胞因子信号转导抑制因子 (suppressors of cytokine signaling, SOCS3) 信号的过表达可导致 STATs 信号缺陷和受损的 IL-17 产生,促进 AAAs 的产生和加重,提示 IL-17 可能对 AAAs 的形成起保护作用^[23]。

3.4 Tregs

Tregs 控制的免疫缺陷是许多病理性免疫反应的根源。多数研究均肯定了 Tregs 在 AAAs 的发病过程中起保护作用^[24-26]。在 C57B1/6 和 CD80^{-/-} CD86^{-/-} 小鼠中,Tregs 减少可促进 AAAs 的形成和进展,缺乏 Tregs 的 CD28^{-/-} 小鼠与 IL-10 减弱的抗炎反应和 Th1 免疫细胞激活有关,IL-10^{-/-} 小鼠亦表现出 Ang II 诱导的 AAAs 形成和破裂倾向,而对 CD28^{-/-} 小鼠补充 Tregs 则限制了 AAAs 的发展,提示 Tregs 在 AAAs 的发病机制中起保护作用^[24]。具有免疫调节性质的 CD4⁺/CD31⁺ T 细胞有调节 mØ 中 MMP-9 和 CD8⁺ T 细胞活性及效应的作用,其在 AAAs 患者外周血和组织中显著减少,提示 CD4⁺/CD31⁺ T 细胞可能与 AAAs 免疫调节有关^[25]。AAAs 患者外周 CD4⁺ CD25⁺ FOXP3⁺ T 细胞及 FOXP3 (一种转录因子,Tregs 的标志物)的表达是减少的,这可能导致 CD4⁺ CD25⁺ Tregs 整体免疫调节功能的异常。当增加 AAAs 组织中内源性 FOXP3⁺ Tregs 的数量,可使动脉壁 mØ 浸润和炎症反应减弱,对 AAAs 的形成起保护作用^[26,27]。当对 Tregs 功能受损的 Apo E^{-/-} 小鼠给予 Tregs 治疗时,可显著减少 mØ、CD4⁺ T 细胞、促炎症细胞因子、MMP-2 和 MMP-9 的水平并抑制 VSMCs 凋亡和氧化应激,增加抗炎 IL-10 和 TGF-β 的表达,Tregs 治疗使 Apo E^{-/-} 小鼠呈剂量依赖性地避免 AAAs 的形成^[28]。

慢性炎症、VSMCs 凋亡、MMPs 表达失衡和细胞外基质的破坏性重塑被认为在 AAAs 发病机制中起着重要作用。最近的研究发现,AAAs 有很多自身免疫性疾病的特征,免疫系统在 AAAs 发病机制中

的作用已引起了人们的充分重视。AAAs 疾病中,Tregs 在调节免疫反应中的作用,为人们对 AAAs 疾病的理解提供了一个独特的研究方向。

3.5 CD8⁺ T

对于 CD8⁺ T 细胞在 AAAs 发病机制中的作用的研究较少且不够明确。IFN-γ 生成的调控呈 CD43 依赖性,CD43 可介导 CD8⁺ T 细胞 (而不是 CD4⁺ T 细胞) 产生 IFN-γ,IFN-γ 可通过增加 VSMCs 凋亡和 MMPs 活性增强而促进动脉瘤发生。CD43^{-/-} 小鼠可对 AAAs 的形成产生耐受,而 CD8⁺ T 细胞的重建或 IFN-γ 的重组可促进动脉瘤的发生,IFN-γ 拮抗剂则在 WT 中止了 AAAs。这些结果提示,IFN-γ 拮抗剂或选择性阻断 CD43⁺ CD8⁺ T 细胞活性,值得在免疫学治疗方面进一步研究^[29]。相比较外周血,人类 AAAs 组织中存在较低比率的 CD8⁺ CD28⁺ T 细胞,缺乏 CD28 表达的 CD8⁺ T 细胞是动脉壁中的一种抑制细胞,鉴于 CD8⁺/CD28⁺ T 细胞的调节性性质,它们在 AAAs 组织中的减少提示了其在调节动脉免疫反应的潜在意义^[30]。

4 结语

目前为止,已有的研究信息仍旧不能明确 T 淋巴细胞在 AAAs 发病机制中的具体作用。究竟是起着简单的病因学作用? 还是发挥着长期炎症或动脉壁结缔组织降解的作用? 我们发现有许多具有争议性的研究成果,如相同细胞或细胞因子起着双重甚至截然相反的结果,这反映了患病动脉壁中炎症反应的复杂性,可能是各炎症细胞及其产物相互影响的结果,抑或研究者所使用的动物模型、疾病所处病理状态和测量方式等差异所致。对 T 淋巴细胞免疫与 AAAs 的关系的更好的理解 and 研究可望探索出新的促进或抑制 AAAs 发生和进展的机制。

【参考文献】

- [1] Duftner C, Seiler R, Klein-Weigel P, *et al.* High prevalence of circulating CD4⁺ CD28⁻ T-cells in patients with small abdominal aortic aneurysms [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2005, 25(7): 1347 - 1352. DOI: 10.1161/01.ATV.0000167520.41436.c0.
- [2] Ocana E, Bohorquez JC, Perez-Requena J, *et al.* Characterisation of T and B lymphocytes infiltrating abdominal aortic aneurysms [J]. *Atherosclerosis*, 2003, 170 (1): 39 - 48. DOI: [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150\(03\)00282-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150(03)00282-X).
- [3] Ocana E, Perez-Requena J, Bohorquez JC, *et al.* Chemokine receptor expression on infiltrating lymphocytes from abdominal aortic aneurysms: role of CXCR4-CXCL12 in lymphoid recruitment [J]. *Atherosclerosis*, 2008, 200 (2): 264 - 270. DOI:

- http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2007.12.043.
- [4] Lu S, White JV, Lin WL, *et al.* Aneurysmal lesions of patients with abdominal aortic aneurysm contain clonally expanded T cells[J]. *J Immunol*, 2014, 192(10): 4897–4912. DOI: 10.4049/jimmunol.1301009.
- [5] Dale MA, Ruhlman MK, Baxter BT. Inflammatory cell phenotypes in AAAs; their role and potential as targets for therapy [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(8): 1746–1755. DOI: 10.1161/ATVBAHA.115.305269.
- [6] Chan WL, Pejnovic N, Hamilton H, *et al.* Atherosclerotic abdominal aortic aneurysm and the interaction between autologous human plaque-derived vascular smooth muscle cells, type 1 NKT, and helper T cells[J]. *Circ Res*, 2005, 96(6): 675–683. DOI: 10.1161/01.RES.0000160543.84254.fl.
- [7] Galle C, Schandene L, Stordeur P, *et al.* Predominance of type 1 CD4⁺ T cells in human abdominal aortic aneurysm[J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 142(3): 519–527. DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02938.x.
- [8] Xiong W, Zhao Y, Prall A, *et al.* Key roles of CD4⁺ T cells and IFN-gamma in the development of abdominal aortic aneurysms in a murine model[J]. *J Immunol*, 2004, 172(4): 2607–2612. DOI: 10.4049/jimmunol.172.4.2607.
- [9] Yan H, Zhou HF, Akk A, *et al.* Neutrophil proteases promote experimental abdominal aortic aneurysm *via* extracellular Trap release and plasmacytoid dendritic cell activation[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2016, 36(8): 1660–1669. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.307786.
- [10] Schonbeck U, Sukhova GK, Gerdes N, *et al.* T(H)2 predominant immune responses prevail in human abdominal aortic aneurysm[J]. *Am J Pathol*, 2002, 161(2): 499–506. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64206-X.
- [11] Uchida HA, Kristo F, Rateri DL, *et al.* Total lymphocyte deficiency attenuates Ang II-induced atherosclerosis in males but not abdominal aortic aneurysms in apoE deficient mice [J]. *Atherosclerosis*, 2010, 211(2): 399–403. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2010.02.034.
- [12] Xu J, Ehrman B, Graham LM, *et al.* Interleukin-5 is a potential mediator of angiotensin II-induced aneurysm formation in apolipoprotein E knockout mice[J]. *J Surg Res*, 2012, 178(1): 512–518. DOI: 10.1016/j.jss.2011.12.016.
- [13] Shimizu K, Shichiri M, Libby P, *et al.* Th2-predominant inflammation and blockade of IFN-gamma signaling induce aneurysms in allografted aortas[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(2): 300–308. DOI: 10.1172/JCI19855.
- [14] Davis VA, Persidskaia RN, Baca-Regen LM, *et al.* Cytokine pattern in aneurysmal and occlusive disease of the aorta[J]. *J Surg Res*, 2001, 101(2): 152–156. DOI: 10.1006/jsre.2001.6281.
- [15] Tesmer LA, Lundy SK, Sarkar S, *et al.* Th17 cells in human disease[J]. *Immunol Rev*, 2008, 223: 87–113. DOI: 10.1111/j.1600-065X.2008.00628.x.
- [16] Cua DJ, Tato CM. Innate IL-17-producing cells: the sentinels of the immune system [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(7): 479–489. DOI: 10.1038/nri2800.
- [17] Wei Z, Wang Y, Zhang K, *et al.* Inhibiting the Th17/IL-17A-related inflammatory responses with digoxin confers protection against experimental abdominal aortic aneurysm[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2014, 34(11): 2429–2438. DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.304435.
- [18] Sharma AK, Lu G, Jester A, *et al.* Experimental abdominal aortic aneurysm formation is mediated by IL-17 and attenuated by mesenchymal stem cell treatment[J]. *Circulation*, 2012, 126(11 Suppl 1): S38–S45. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.083451.
- [19] Fujita-Sato S, Ito S, Isobe T, *et al.* Structural basis of digoxin that antagonizes ROR γ t receptor activity and suppresses Th17 cell differentiation and interleukin (IL)-17 production [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(36): 31409–31417. DOI: 10.1074/jbc.M111.254003.
- [20] Huh JR, Leung MW, Huang P, *et al.* Digoxin and its derivatives suppress TH17 cell differentiation by antagonizing ROR γ t activity[J]. *Nature*, 2011, 472(7344): 486–490. DOI: 10.1038/nature09978.
- [21] Wu J, Zhou C, Chen W, *et al.* Digoxin attenuates acute cardiac allograft rejection by antagonizing ROR γ activity [J]. *Transplantation*, 2013, 95(3): 434–441. DOI: 10.1097/TP.0b013e31827a48f5.
- [22] Madhur MS, Funt SA, Li L, *et al.* Role of interleukin 17 in inflammation, atherosclerosis, and vascular function in apolipoprotein E-deficient mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(7): 1565–1572. DOI: 10.1161/ATVBAHA.111.227629.
- [23] Romain M, Taleb S, Dalloz M, *et al.* Overexpression of SOCS3 in T lymphocytes leads to impaired interleukin-17 production and severe aortic aneurysm formation in mice — brief report [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(3): 581–584. DOI: 10.1161/ATVBAHA.112.300516.
- [24] Ait-Oufella H, Wang Y, Herbin O, *et al.* Natural regulatory T cells limit angiotensin II-induced aneurysm formation and rupture in mice[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013, 33(10): 2374–2379. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.301280.
- [25] Caligiuri G, Rossignol P, Julia P, *et al.* Reduced immunoregulatory CD31⁺ T cells in patients with atherosclerotic abdominal aortic aneurysm [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(3): 618–623. DOI: 10.1161/01.ATV.0000200380.73876.d9.
- [26] Yin M, Zhang J, Wang Y, *et al.* Deficient CD4⁺ CD25⁺ T regulatory cell function in patients with abdominal aortic aneurysms[J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2010, 30(9): 1825–1831. DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.200303.
- [27] Yodoi K, Yamashita T, Sasaki N, *et al.* Foxp3⁺ regulatory T cells play a protective role in angiotensin II-induced aortic aneurysm formation in mice[J]. *Hypertension*, 2015, 65(4): 889–895.
- [28] Meng X, Yang J, Zhang K, *et al.* Regulatory T cells prevent angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm in apolipoprotein E knockout mice [J]. *Hypertension*, 2014, 64(4): 875–882.
- [29] Zhou HF, Yan H, Cannon JL, *et al.* CD43-mediated IFN-gamma production by CD8⁺ T cells promotes abdominal aortic aneurysm in mice[J]. *J Immunol*, 2013, 190(10): 5078–5085.
- [30] Galle C, Schandene L, Dereume JP, *et al.* CD8⁺ T-cell subpopulations in human abdominal aortic aneurysm lesion [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2006, 26(2): e19; author reply e19–20. DOI: 10.1161/01.ATV.0000199249.15199.80.