

T 细胞介导的炎症反应机制在干眼病中的研究现状

谭 莲, 谢汉平

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81172873)
作者单位:(400038) 中国重庆市, 第三军医大学西南医院/西南眼科医院
作者简介:谭莲, 在读硕士研究生, 研究方向: 角膜病。
通讯作者:谢汉平, 医学博士, 主任医师, 研究方向: 角膜病。
xiehanping@yahoo.com.cn
收稿日期:2012-12-17 **修回日期:**2013-02-07

Progress of inflammation mediated by T cell in dry eye disease pathogenesis

Lian Tan, Han-Ping Xie

Foundation item: National Natural Science Foundation of China (No. 81172873)
Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, Southwest Eye Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China
Correspondence to: Han-Ping Xie. Department of Ophthalmology, Southwest Hospital, Southwest Eye Hospital, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, China. xiehanping@yahoo.com.cn
Received:2012-12-17 **Accepted:**2013-02-07

Abstract

• Dry eye disease is a common ocular surface disease in ophthalmology and its complex pathogenesis makes no animal model could perfectly mimic the characteristic of dry eye disease which is chronic, repeated and worse. Studies showed inflammation plays an important role in the development of dry eye disease and we gave an overview of Th1 cell and Th17 cell in the pathogenesis of dry eye disease in this review.

• **KEYWORDS:** dry eye disease; inflammation; cytokine; Th1 cell; Th17 cell

Citation: Tan L, Xie HP. Progress of inflammation mediated by T cell in dry eye disease pathogenesis. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(3):485-488

摘要

干眼病是眼科常见的眼表疾病,其发病机制复杂,目前尚无一种理想的动物模型能较好地模拟出干眼病发病缓慢、反复发生、逐渐恶化的特点。研究认为,炎症是干眼病发生的主要因素。本文主要对 Th1 细胞和 Th17 细胞及其相关细胞因子在干眼病发病中作用做简要概述。

关键词: 干眼病; 炎症; 炎症因子; Th1 细胞; Th17 细胞
DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.03.17

引用: 谭莲, 谢汉平. T 细胞介导的炎症反应机制在干眼病中的研究现状. *国际眼科杂志* 2013;13(3):485-488

0 引言

干眼病是一种常见的、进展缓慢、病因复杂的眼科疾病^[1]。2007 年国际干眼病专题研究报告指出:干眼病是泪液和眼球表面的多因素疾病,能引起患眼不适,视觉障碍和泪膜不稳定,可能损害眼球表面,伴有泪膜渗透性增加和眼表炎症^[2]。该定义强调了高渗透压及炎症在干眼病发病中的作用以及干眼病对视觉功能的影响。2002 年美国 Women's Health Study (WHS) 流行病学调查指出:美国 50 岁以上女性干眼病患病率约 7.8%,且随着年龄增加,其患病率增加^[3]。干眼病在工作、阅读、开车及电脑使用等方面给患者带来不便,明显降低其生活质量^[4]。近年来,尽管已有大量动物模型及临床试验研究干眼病,但其确切发病机制仍不明确^[5]。临床试验发现,抗炎药物可以有效治疗干眼病。进一步的研究则提示 T 细胞介导的炎症反应可能是干眼病发生的核心机制^[6]。本文主要对 T 细胞介导的炎症反应及其主要相关细胞因子在干眼病发病中的作用机制进行综述。

1 Th1 细胞主要相关细胞因子

Th1 细胞(Type I helper T lymphocyte cell, I 型辅助性 T 淋巴细胞)分泌的细胞因子包括白介素-2(interleukin-2, IL-2), 白介素-12(interleukin-12, IL-12), 白介素-18(interleukin-18, IL-18), 干扰素- γ (interferon- γ , IFN- γ) 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 等,它们主要参与细胞毒性 T 细胞的增殖、分化、成熟及细胞免疫应答^[6]。

1.1 IFN- γ 主要由 Th1 和自然杀伤细胞(nature kill cell, NK 细胞)分泌,可参与迟发型超敏反应、炎症、移植物抗宿主病等。多项研究均发现,干眼病患者和动物模型眼表组织中 IFN- γ 表达明显升高^[7-10]。IFN- γ 参与干眼病的主要机制为上调结膜上皮细胞分化相关蛋白表达,加速结膜组织的鳞状化生、异常凋亡、促使其他炎症细胞因子的产生,直接或间接破坏结膜上皮细胞^[10]。

1.2 TNF- α TNF- α 是一类主要由巨噬细胞和单核细胞分泌的促炎因子,眼表上皮细胞也可分泌。TNF- α 主要参与炎症、T 细胞分化及其生长调节^[11]。Yang 等通过检测 18 例干眼病患者和 14 例正常人的泪液发现,干眼病患者泪液中 TNF- α 、IL-6 升高^[11]。Chuck 等将肉毒毒素 B (Botulium toxin B, 肌肉松弛药物,抑制腺体分泌)注射至

小鼠泪腺模拟干眼病发病,发现实验小鼠泪液分泌减少、角结膜染色评分值增加、眼表组织中 TNF- α , IL-1, IL-12 等炎症因子表达增多^[12], 研究者认为,释放的 TNF- α 可活化其他炎症细胞因子,使眼表炎症恶化。而 Trousdale 等发现将腺病毒携带的抗 TNF- α 转染至泪腺炎家兔模型中,可明显增加其泪液分泌值、降低角结膜染色评分值及减少 T 淋巴细胞浸润。因此,抗 TNF- α 治疗可能为干眼病治疗的新靶点,但其有效性及安全性还有待进一步研究^[13]。

1.3 IL-12 可促进 Th0 细胞分化为 Th1 细胞,诱导产生 IFN- γ 等细胞因子^[14]。试验发现,干眼病患者泪液及眼表组织中 IL-12 明显升高并伴随眼表染色评分值增加、结膜杯状细胞减少等^[14]。此外,在干燥综合征(Sjögren's syndrome, SS)小鼠模型中发现,高表达的 IL-12 可明显促进淋巴细胞浸润泪腺和唾液腺,抑制唾液分泌;还可刺激机体合成抗核抗体等自身抗体,加速靶细胞凋亡,从而在干眼病的发生发展中扮演着重要角色^[15]。

2 Th2 细胞的主要相关细胞因子

Th2 型细胞(Type II helper T lymphocyte cell, II 型辅助性 T 细胞)主要分泌白介素-4(interleukin-4, IL-4)、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、白介素-10(interleukin-10, IL-10)、白介素-13(interleukin-13, IL-13)等炎症细胞因子,参与 B 细胞的分化、成熟及增殖,促进抗体生成,介导体液免疫^[6]。

2.1 IL-4 IL-4 是 Th2 细胞产生的特征性因子,在 Th2 细胞的分化、增殖、基因转录及抗凋亡等方面起重要作用。IL-4 可抑制 IL-2、IL-12 和 IFN- γ 的产生,参与调节 Th1 与 Th2 之间的平衡^[16]。Jabs 等发现 MRL/+ 小鼠(系统性红斑狼疮模型小鼠)和 MRL/lpr 小鼠(lpr 基因缺陷的系统性红斑狼疮模型小鼠)的泪腺及脾脏组织中 IL-4 表达明显增高^[17]。Cuong 等通过基因敲除方法建立干眼病小鼠模型,发现小鼠眼表组织及唾液腺尽管有大量淋巴细胞浸润(IL-4 高表达)及抗核抗体生成,但未检测到抗胆碱能受体-3 抗体,因此小鼠的唾液分泌量未见下降。研究认为 IL-4 参与干眼病的机制主要是抑制 Th1 活化、增殖及抗胆碱能受体-3 抗体产生^[18]。

2.2 IL-10 IL-10 被认为是一种重要的抗炎细胞因子,可抑制 Th1 细胞产生 IFN- γ 和 TNF- α ,抑制 T 细胞活化。而 Rashid 等使用亚油酸(linoleic acid)和亚麻酸(alpha-linolenic acid)对干眼病小鼠进行治疗后,发现之前干眼病小鼠眼表组织中高表达的 IL-10 明显降低^[19]。此外, Bertorello 检测 14 例干燥综合征患者和 26 例正常人的唾液比较发现,SS 患者唾液中的 IL-10 明显高于正常组,其推测 IL-10 可通过影响 B 淋巴细胞的活化与增殖,促进 B 淋巴细胞产生抗核抗体等途径参与干眼病^[20]。

3 Th17 细胞的主要相关细胞因子

Th17 细胞(Type XVII helper T lymphocyte cell)是一种新发现的、能够分泌 IL-17 的 T 细胞亚群,在自身免疫性疾病和机体防御反应中起着重要作用。Th17 分泌白介素-17(interleukin-17, IL-17)家族,包括 IL-17A、IL-17B、IL-17C、IL-17D、IL-25 和/或 IL-17F 等,其标志性炎症因

子为 IL-17A,即 IL-17^[21]。研究表明,IL-6 与转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)共同作用可促进 Th0 细胞向 Th17 分化,IL-23 促进 Th17 细胞增殖^[19]。

3.1 IL-17 IL-17 参与多种自身免疫性疾病^[21,22],包括干眼病的发病^[23]。Pflugfelder 等通过实验研究发现,IL-17 不仅可以直接破坏角膜上皮屏障^[24],还可诱导释放其他促炎因子促进干眼病的发展^[25,26]。Humphreys-Beher 等在 NOD 小鼠(non-obesity diabetes mice,非肥胖型糖尿病小鼠,即自身免疫性糖尿病模型小鼠)染色体上发现 19 个糖尿病易感染色体区间(称为 Idd),而其中的 2 个(Idd3 和 Idd5)染色体位点为干眼病易感位点。他们将 NOD 小鼠和 C57BL/6J 小鼠先相互杂交,再近交多代,得到纯合的、只含有 Idd3 和 Idd5 两个干眼病易感基因位点的纯和小鼠,称为 C57BL/6. NOD-Aec1Aec2 小鼠^[27]。Cuong 的研究发现,该小鼠在第 12 周龄开始出现干眼病的体征并伴随有唾液腺及局部淋巴结中 IL-17 和 IL-23 强阳性表达^[28]。而通过逆行套管插入法将重组的 Ad5-IL17R:Fc 腺病毒(携带 IL-17 受体)注入 16 周龄(疾病期)的 C57BL/6. NOD-Aec1Aec2 小鼠唾液腺内后,发现该小鼠血清和脾脏中 CD4⁺IL17⁺T 细胞表达显著降低,抗核抗体谱恢复基线水平,唾液腺中淋巴细胞浸润减少,唾液分泌量增多。证实了在 SS 小鼠唾液腺功能障碍中,IL-17 是重要的炎症致病因子,抗 IL-17 可能为干眼病治疗的有效途径^[29]。

3.2 IL-6 Peck 等研究发现,干眼病患者的唾液腺、泪腺等组织中白介素-6(interleukin-6, IL-6)表达明显升高^[28]。Turner 等运用 0.5g/L 环孢素 A 治疗干眼病患者,发现其可以显著降低眼表组织 IL-6 的表达及改善干眼病症状^[30]。研究认为,IL-6 通过与其受体结合形成受体复合物后,通过活化磷酸化信号转导及信号转导和转录活化因子-3(signal transduction and transcription activation factor-3, STAT3)转录,介导细胞外信号转导至胞内,从而促进 Th17 细胞分泌 IL-17 等细胞因子^[22],加重炎症与细胞凋亡^[31,32],参与干眼病发病。

3.3 TGF- β TGF- β 是一个多功能细胞因子,可抑制 T 细胞、B 细胞增殖与分化,调节淋巴细胞聚集与免疫反应^[33]。TGF- β 单独存在时,可促进 Th0 向调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)分化;当有 IL-6 等其他炎症细胞因子存在时,则促进 Th0 向 Th17 或 Th1 分化^[22]。而在干眼病患者泪液高渗透压的微环境下,由于已伴有多种炎症因子释放,TGF- β 主要促进 Th0 向 Th17 细胞分化。

3.4 IL-23 IL-23 是新发现的一个与 IL-12 共享 P40 亚基的细胞因子^[34]。在干眼病患者唾液腺中呈高表达^[28]。IL-23 与 IL-23R 结合后,激活酪氨酸激酶(Tyrosine kinase, JAK),磷酸化 STAT3(信号转导和转录活化因子-3)和 STAT4(信号转导和转录活化因子-4)信号通路,促进其转录,从而维持 Th17 细胞增殖^[35]。研究报道,抗 P40 亚基治疗可以明显改善类风湿关节炎等自身免疫性疾病患者症状,但能否将其用于干眼病的治疗还有待研究。

3.5 Treg 细胞 Treg 细胞可以有效地抑制辅助性 T 淋巴细胞增殖、活化,参与免疫抑制。Treg 细胞表面表达

CD4⁺, CD25⁺, 其关键转录因子为叉状头/翅膀螺旋转录因子(Forkhead/winged helix transcription factor, Foxp3)^[35]。研究提示,干眼病患者眼表组织中 Treg 细胞数量减少,但抑制辅助性 T 细胞增殖、分化能力并没有降低^[36];但也有研究者发现干眼病患者 Treg 细胞数量没有明显减少,抑制 T 细胞增殖、活化的能力明显下降^[23]。

4 其他相关炎症因子

Chen 等发现干眼病小鼠眼表组织中 IL-1 表达升高,抗 IL-1 受体抗体(anti-IL-1receptor antibody, IL-1RA)减少^[37],他们认为 IL-1 通过与 IL-1R 结合后,可活化 MAPK 信号通路,介导其他炎症细胞因子释放,促进角膜上皮细胞鳞状化生^[38]。

此外,IL-7、IL-18、基质金属蛋白酶-9(Matrix metalloproteinase-9, MMP-9)等在干眼病患者及动物模型眼表组织中表达亦增加。研究表明,在泪液高渗透压等的刺激下,角膜上皮细胞产生大量的 MMP-9 可降解角膜细胞外基质,从而直接损伤角膜屏障、加速上皮细胞脱落;同时,MMP-9、IL-1、IFN- γ 及泪液高渗透压、氧化刺激等因素均可以活化丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路,介导 IL-1 β 等细胞因子的产生,加速角膜、角膜细胞凋亡及炎症反应,诱导干眼病发病^[39]。

5 Th1 与 Th17 的共同作用

尽管新发现的 Th17 细胞打破了以往 Th1/Th2 主导干眼病发病的观点,但是单独抗 IL-17 治疗并不能完全改善干眼病的体征。无论是在自身免疫性血小板减少性紫癜患者中,还是在 Sjögren's 综合征动物模型靶器官中,Th1 和 Th17 相关的细胞因子均表达增加^[28,39]。Cuong 等在自身免疫性干眼病小鼠血清及腺体中发现,疾病前期(第 4 周龄)主要为 T-bet(Th1 细胞特异性转录因子)转录水平增高;而在疾病后期(第 16 周龄)则主要为 ROR γ t(Retinoic acid related orphan nuclear receptor γ t, Th17 细胞关键转录因子)^[28]。提示干眼病的发病可能为 Th1 细胞和 Th17 细胞共同介导的免疫炎症反应,干眼病的分子治疗可能需抗多因子联合治疗,其确切机制还需进一步研究。

6 展望

干眼病的发病机制复杂。目前,尽管炎症被认为是干眼病发病的核心,但是参与干眼病发生、发展的细胞因子、信号通路及其相互之间的关系还不十分清楚,泪液高渗透压、干燥环境等外界应激是如何激活细胞内、外炎症因子分泌,导致细胞损伤和凋亡;Th17 的发现是否完全否定了 Th2 在干眼病发病中的作用;Th1 细胞和 Th17 细胞在干眼病发病中的作用是并列、先后还是主要与次要的关系等,都需大量的研究来证实。相信随着科学研究的不断深入,干眼病复杂的发病机制终将得到阐明。

参考文献

- 1 Steven P, Cursiefen C. Anti-inflammatory treatment in dry eye disease. *Klin Monbl Augenheilkd* 2012;229(5):500-505
- 2 Lemp MA, Baudouin C, Baum J, et al. The definition and classification of dry eye disease: report of the Definition and Classification Subcommittee of the International Dry Eye Workshop (2007). *Ocul Surf* 2007; 5(2):75-92

- 3 Schaumberg DA, Sullivan DA, Burning JE, et al. Prevalence of dry eye syndrome among US women. *Am J Ophthalmol* 2003;136(2):318-326
- 4 Miljanovic B, Dana R, Sullivan DA, et al. Impact of dry eye syndrome on vision-related quality of life. *Am J Ophthalmol* 2007;143(3):409-415
- 5 Lavoie TN, Lee BH, Nguyen CQ. Current concepts: Mouse models of sjögren's syndrome. *J Biomed Biotechnol* 2011;2011:549107
- 6 Stevenson W, Chauhan SK, Dana R. Dry eye disease: an immune-mediated ocular surface disorder. *Arch Ophthalmol* 2012;130(1):90-100
- 7 Vakaloglou KM, Mavraqani CP. Activation of the type I interferon pathway in primary sjögren's syndrome: an update. *Curr Opin Rheumatol* 2011;23(5):459-464
- 8 Bikker A, van Woerkom JM, Kruijze AA, et al. Increased Expression of Interleukin-7 in labial salivary glands of patients with primary sjögren's syndrome correlates with increased inflammation. *Arthritis Rheum* 2010;62(4):969-977
- 9 De Paiva CS, Villarreal AL, Corrales RM, et al. Dry eye-induced conjunctival epithelial squamous metaplasia is modulated by interferon-gamma. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2007;48(6):2553-2560
- 10 Zhang X, Chen W, De Paiva CS, et al. Interferon- γ exacerbates dry eye-induced apoptosis in conjunctiva through dual apoptotic pathways. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011;52(9):6279-6285
- 11 Postal M, Appenzeller S. The role of Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Cytokine* 2011;56(3):537-543
- 12 Zhu L, Shen J, Zhang C, et al. Inflammatory cytokine expression on the ocular surface in the Botulinum toxin B induced murine dry eye model. *Mol Vis* 2009;15:250-258
- 13 Trousdale MD, Zhu Z, Stevenson D, et al. Expression of TNF inhibitor gene in the lacrimal gland promotes recovery of tear production and tear stability and reduced immunopathology in rabbits with induced autoimmune dacryoadenitis. *J Autoimmune Dis* 2005;2:6
- 14 Yanaqi K, Haneji N, Hamano H, et al. In vivo role of IL-10 and IL-12 during development of sjögren's syndrome in MRL/lpr Mice. *Cell Immunol* 1996;168(2):243-250
- 15 Vosters JL, Landek-Salgado MA, Yin H, et al. Interleukin-12 induces salivary gland dysfunction in transgenic mice, providing a new model of Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum* 2009;60(12):3633-3641
- 16 Roescher N, Tak PP, Illei GG, et al. Cytokines in sjögren's syndrome: potential therapeutic targets. *Ann Rheum Dis* 2010;69(6):945-948
- 17 Jabs DA, Prendergast RA, Rorer EM, et al. Cytokines in autoimmune lacrimal gland disease in MRL/MpJ mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2001;42(11):567-571
- 18 Nguyen CQ, Gao JH, Kim H, et al. IL-4-Stat6 signal transduction-dependent induction of the clinical phase of sjögren's syndrome-like disease of the nonobese diabetic mouse. *J Immunol* 2007;179(1):382-390
- 19 Rashid S, Jin Y, Ecoiffier T, et al. Topical omega-3 and omega-6 fatty acids for treatment of dry eye. *Arch Ophthalmol* 2008;126(2):219-225
- 20 Bertorell R, Cordone MP, Contini P, et al. Increased levels of interleukin-10 in saliva of sjögren's syndrome patients. *Clin Exp Med* 2004;4(3):148-151
- 21 Moriyama M, Hayashida JN, Toyoshima T, et al. Cytokine/chemokine profiles contribute to understanding the pathogenesis and diagnosis of

- primary sjögren's syndrome. *Clin Exp Immunol* 2012;169(1):17-26
- 22 Bi Y, Yang R. Direct and indirect regulatory mechanisms in TH17 cell differentiation and functions. *Scand J Immunol* 2012;75(6):543-552
- 23 Chauhan SK, EI Annan J, Ecoiffier T, et al. Autoimmunity in dry eye is due to resistance Th17 to Treg suppression. *J Immunol* 2009;182(3):1247-1252
- 24 De Paiva CS, Chotikavanich S, Pangelinan SB, et al. IL-17 disrupts corneal barrier following desiccating stress. *Mucosal Immunol* 2009;2(3):243-253
- 25 Cortez DM, Feldman MD, Mummidi S, et al. IL-17 stimulates MMP-1 expression in primary human cardiac fibroblasts via p38 MAPK - and ERK1/2-dependent C/EBP-beta, NF-kappaB, and AP-1 activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;293(6):3356-3365
- 26 Katsifis GE, Moutsopoulos NM, Wahl SM. T lymphocytes in sjögren's syndrome: contributors to and regulators of pathophysiology. *Clin Rev Allergy Immunol* 2007;32(3):252-264
- 27 Cha S, Naqashima H, Brown VB, et al. Two NOD Idd-associated intervals contribute synergistically to the development of autoimmune exocrinopathy (sjögren's syndrome) on a healthy murine background. *Arthritis Rheum* 2002;46(5):1390-1398
- 28 Nquyen CQ, Hu MH, Li Y, et al. Salivary gland tissue expression of interleukin-23 and interleukin-17 in sjögren's syndrome: findings in humans and mice. *Arthritis Rheum* 2008;58(7):734-743
- 29 Nquyen CQ, Yin H, Lee BH, et al. IL17: potential therapeutic target in sjögren's syndrome using adenovirus-mediated gene transfer. *Lab Invest* 2011;91(1):54-62
- 30 Turner K, Pflugfelder SC, Ji L, et al. Interleukin-6 levels in the conjunctival epithelium of patients with dry eye disease treated with cyclosporine ophthalmic emulsion. *Cornea* 2000;19(4):492-496
- 31 Sugaya S, Sakimoto, Shoji J, et al. Regulation of soluble interleukin-6 (IL-6) receptor release from corneal epithelial cells and its role in the ocular surface. *Jpn J Ophthalmol* 2011;55(3):277-282
- 32 Marquez - Velasco R, Rodriguez - Henriquez P, Bojalil R, et al. Interleukin 6 is associated with pulmonary involvement in primary sjögren's syndrome. *J Rheumatol* 2009;36(11):2615-2616
- 33 Nandula SR, Amarnath S, Molinolo A, et al. Female mice are more susceptible to developing inflammatory disorders due to impaired transforming growth factor signaling in salivary glands. *Arthritis Rheum* 2007;56(6):1798-1805
- 34 Krueger GG, Langley RG, Leonardi C, et al. A Human Interleukin-12/23 Monoclonal Antibody for the Treatment of Psoriasis. *N Engl J Med* 2007;356(6):580-592
- 35 Boniface K, Blom B, Liu YJ, et al. From interleukin-23 to T-helper 17 cells: human T-helper cell differentiation revisited. *Immunol Rev* 2008;226:132-146
- 36 Li X, Li X, Qian L, et al. T regulatory cell are markedly diminished in diseased salivary glands of patients with primary sjögren's syndrome. *J Rheumatol* 2007;34(12):2438-2445
- 37 Chen YT, Nikulina K, Lazarev S, et al. Interleukin - 1 as a phenotypic immunomodulator in keratinizing squamous metaplasia of the ocular surface in sjögren's syndrome. *Am J Pathol* 2010;177(3):1333-1343
- 38 Luo L, Li DQ, Doshi A, et al. Experimental dry eye stimulates production of inflammatory cytokines and MMP-9 and activates MAPK signaling pathways on the ocular surface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2004;45(12):4293-4301
- 39 Ma D, Zhu X, Zhao P, et al. Profile of Th17 cytokines (IL-17, TGF-beta, IL-6) and Th1 cytokine (IFN-gamma) in patients with immune thrombocytopenic purpura. *Ann Hematol* 2008;87(11):899-904