

Th17 和 Treg 细胞及其平衡对甲状腺相关眼病的影响

王萍¹, 符宇², 蒋敏敏¹, 王泽瑾⁵, 颜焱¹, 高天雨³, 王颖⁴, 燕树勋²

引用:王萍,符宇,蒋敏敏,等. Th17 和 Treg 细胞及其平衡对甲状腺相关眼病的影响. 国际眼科杂志 2022;22(7):1137-1142

基金项目:河南省中医药传承与创新人才工程(仲景工程)中医拔尖人才(No.CZ0237-02);河南省中医药科学研究专项课题(No.20-21ZY1016)

作者单位:¹(450000)中国河南省郑州市,河南中医药大学;(450000)中国河南省郑州市,河南中医药大学第一附属医院²内分泌科;³眼科;⁴(450000)中国河南省郑州市,郑州大学第一附属医院老年心血管科;⁵(056038)中国河北省邯郸市,河北工程大学医学部

作者简介:王萍,在读博士研究生,住院医师,研究方向:中医药防治内分泌代谢疾病。

通讯作者:燕树勋,博士研究生,教授,河南中医药大学第一附属医院内分泌科二病区主任,博士研究生导师,研究方向:中医药防治内分泌代谢疾病. ysx982001@163.com

收稿日期:2021-11-02 修回日期:2022-06-06

摘要

甲状腺相关性眼病(TAO)是一种器官特异性自身免疫性疾病,其引起的一系列症状使患者的健康水平、生活质量明显下降。TAO的发病机制尚未完全阐明,目前缺乏统一、成熟的治疗方案。辅助性T17(Th17)细胞、调节性T(Treg)细胞及其失衡与TAO的免疫学发病机制密切相关。目前认为Th17细胞所分泌的细胞因子可促进TAO的炎症反应和眼眶结缔组织的纤维化,抑制TAO眼眶结缔组织的成脂分化。而Treg细胞对TAO的影响以发挥免疫抑制作用、延缓疾病进展为主。Th17、Treg细胞之间存在动态平衡关系,Th17/Treg细胞的失衡能够推动TAO的发生发展。本文主要阐述Th17、Treg细胞及其平衡对TAO的影响机制,并对不同研究结果间的差异原因进行分析,以期对TAO发病机制的研究及临床对因治疗提供一定参考。

关键词:辅助性T17(Th17)细胞;调节性T(Treg)细胞;甲状腺相关眼病

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2022.7.14

Effects of Th17 and Treg cells with their balance on thyroid - associated ophthalmopathy

Ping Wang¹, Yu Fu², Min - Min Jiang¹, Ze - Jin Wang⁵, Yan Yan¹, Tian - Yu Gao³, Ying Wang⁴, Shu - Xun Yan²

Foundation items: Henan Traditional Chinese Medicine Inheritance and Innovation Talent Project (Zhongjing Project) Top - notch

Talents of Traditional Chinese Medicine (No.CZ0237-02); Special Subject of Scientific Research on Traditional Chinese Medicine in Henan Province (No.20-21ZY1016)

¹Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; ²Department of Endocrinology; ³Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; ⁴Department of Geriatric Cardiology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China; ⁵Medical College of Hebei University of Engineering, Handan 056038, Hebei Province, China

Correspondence to: Shu - Xun Yan. Department of Endocrinology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450000, Henan Province, China. ysx982001@163.com

Received: 2021-11-02 Accepted: 2022-06-06

Abstract

• Thyroid - associated ophthalmopathy (TAO) is an organ-specific autoimmune disease, which will cause a series of symptoms to significantly reduce the health level and life quality of patients. The pathogenesis of TAO has not been fully clarified. At present, there is a lack of unified and mature treatment scheme of it. Indeed, T-helper 17 lymphocyte (Th17) cells, regulatory T (Treg) cells and their imbalance are closely related to the immunological pathogenesis of TAO. It is currently believed that the cytokines secreted by Th17 cells can not only promote the inflammatory response of TAO and the fibrosis of orbital connective tissue, but also inhibit the adipogenic differentiation of TAO orbital connective tissue. In addition, Treg cells mainly exert immunosuppressive effect on TAO and delay the disease progression. At the same time, there is a dynamic balance relationship between Th17 and Treg cells, the imbalance of Th17/Treg cells can trigger the occurrence and development of TAO. This paper mainly expounds the influence mechanism of Th17, Treg cells and their balance on TAO, and analyzes the reasons for the differences between different research results, so as to provide some reference for the study of the pathogenesis and clinical treatment of TAO.

• KEYWORDS: T - helper 17 lymphocyte (Th17) cells; regulatory T (Treg) cells; thyroid - associated ophthalmopathy

Citation: Wang P, Fu Y, Jiang MM, et al. Effects of Th17 and Treg cells with their balance on thyroid-associated ophthalmopathy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022;22(7):1137-1142

0 引言

甲状腺相关眼病(thyroid-associated ophthalmopathy, TAO)是一种器官特异性自身免疫性疾病,是Graves病(Graves' disease, GD)最常见、最重要的甲状腺外器官损害^[1],其发生率占GD的25%~50%^[2]。TAO临床表现复杂,疾病的活动期主要为明显的炎症反应,眼部异常物质如糖胺聚糖(glycosaminoglycans, GAGs)大量沉积、淋巴细胞浸润和组织水肿引起的眼睑、结膜充血水肿、眼球突出等。静止期炎症活动减退,则出现眶内组织的纤维化和脂肪化,出现眼球运动障碍、斜视和复视等症状^[3]。TAO导致的颅面畸形、视功能损伤等使患者总体的健康相关生活质量明显下降^[4]。目前多用一般支持疗法、糖皮质激素治疗、免疫抑制剂治疗、球后放射治疗、手术等干预TAO^[1],临床尚缺乏统一、成熟的治疗方案^[5]。TAO的发病机制涉及免疫、遗传、环境等诸多方面,其中免疫因素与TAO关系密切^[6]。越来越多的证据显示,辅助性T17(T-helper 17 lymphocyte, Th17)细胞、调节性T(regulatory T cell, Treg)细胞对TAO免疫平衡的影响至关重要^[7]。本文就Th17、Treg细胞及其平衡对TAO的影响进行综述。

1 TAO的免疫学发病机制

TAO的具体发病机制尚不明确。多数学者认为其发病以甲状腺上皮细胞、眼眶成纤维细胞(orbital fibroblasts, OFs)等表达共同抗原所引起的细胞免疫异常为主。促甲状腺激素受体(thyrotropin receptor, TSH receptor, TSHR)是当前较为肯定的交叉抗原^[8]。TSHR表达量的升高能直接参与TAO的发病,也能在TAO发生后进一步上升。胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor 1, IGF-1R)是TAO发病和进展的另一重要自身抗原^[9]。

OFs作为TAO自身免疫反应的靶细胞^[10],可发挥免疫调节功能,并有明显的异质性(细胞在生长过程中,经过多次分裂增殖,在完成其生命周期的同时呈现分子生物学或基因方面的改变,从而产生细胞状态或类型的多样性)。OFs能够在细胞因子和自身抗体的作用下分化成肌成纤维细胞和脂肪细胞^[11]。活化的T淋巴细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞等可通过CD40~CD154共刺激途径激活OFs,合成并释放大量的细胞因子、黏附分子和抗体到组织中,影响OFs的增殖和分化,诱导OFs合成并释放透明质酸(hyaluronic acid, HA)和其他GAGs,并表达免疫调节蛋白,引起眼眶局部炎症。GAGs堆积及脂肪形成最终导致眼外肌的增粗、水肿、变性、眼眶脂肪组织体积增大^[3]和眼眶结缔组织纤维化^[6]。同时,激活的OFs分泌大量的细胞因子、生长因子及趋化因子,将更多的免疫细胞进一步募集至眼眶中,导致TAO炎症反应的失控^[12]。在TAO的发生发展中外周血纤维细胞也起到了很重要的作用。纤维细胞来源于骨髓,可表达CD45、CD34、趋化因子受体4(CXCR4)和TSHR等表面标志物。TAO患者外周血中CD34⁺纤维细胞的数量上升明显,能够浸润眼眶组织并分化成CD34⁺OF,与眼眶中原有的CD34⁻OF共同表达TSHR和IGF-1R,且相互调节^[13]。Gillespie等^[14]研究表明与健康组相比,TAO患者的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中有更多的纤维细胞,TSHR表达增加。Smith等^[3]认为组成性CD40和主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex-II, MHC-II)在

纤维细胞上的表达比OFs更有效,纤维细胞可有效地将抗原呈递给TAO中的T细胞。

2 Th17和Treg细胞及其功能概述

Th17作为主要的促炎细胞,其增殖、分化过程需要由胸腺基质淋巴细胞(TSLP)、IL-23、IL-6、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、白细胞介素-1 β (interleukin-1, IL-1 β)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-4等共同介导,并需转录激活因子3(STAT3)活化和特异性转录因子维甲酸相关孤儿受体 γ t(ROR γ t)mRNA的表达^[15-16]。其中IL-6在促进Th17细胞的分化的同时能够抑制Treg细胞的分化^[17]。Th17细胞主要分泌IL-17(IL-17A)、IL-21、IL-22等细胞因子,表达IL-23受体(IL-23R)及趋化因子受体6(CCR6)。其中IL-17的改变能够代表Th17细胞水平的改变和疾病的发生。IL-17能够促进免疫细胞活化,使靶细胞高表达IL-6、IL-8等细胞因子,从而进一步召集和活化中性粒细胞,导致更多的炎症因子分泌,最终加重局部炎症反应及组织损伤。IL-21能够和STAT3相互作用,上调IL-23、ROR γ t的表达,扩展Th17细胞的分化状态^[18]。IL-23作为Th17细胞启动后进一步拓展和存活的依赖性因子,能促进并维持Th17细胞的分化成熟和生理功能的反馈^[19]。

Treg细胞有低反应性及免疫抑制性的特点。叉头状转录因子P3(fork head boxP3, Foxp3)是Treg细胞的标志性分子^[20]。Treg细胞通过分泌细胞因子、细胞间接触、由Foxp3在转录水平调控效应性T细胞的活化过程、延长细胞增值周期、促进细胞死亡、清除活化免疫细胞^[21]等多种方式发挥对效应性T细胞及抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC)的负调节作用,还能由改变APC的状态来抑制B细胞的过度活化^[22]。Treg细胞主要分泌TGF- β 、IL-10等细胞因子,表达细胞毒性T淋巴细胞相关蛋白4(CTLA-4)分子,传递抑制信号。高浓度TGF- β 在没有炎症因子介导的情况下,通过信号转导磷酸化激活转录因子Smad2和Smad3刺激Foxp3表达,促使CD4⁺T细胞分化为Treg细胞^[23]。IL-10作为功能强大的抑炎因子,与TGF- β 共同诱导Treg细胞分化,同时抑制Th17细胞的反应^[24]。

Th17与Treg细胞是CD4⁺T细胞分化的不同方向,二者共享TGF- β 介导的信号通路。TGF- β 单独作用时,活化的初始T细胞分化成Treg细胞。当机体免疫系统被激活,IL-6和TGF- β 协同作用则诱导ROR γ t mRNA产生,使T细胞向Th17细胞分化,同时抑制Treg的表达。Th17和Treg细胞在机体的免疫反应中既独立又统一,共同维持机体免疫微环境的平衡,一旦这种平衡被打破,多种免疫相关疾病便会随之发生^[25]。

3 Th17细胞在TAO发生发展中的作用

Th17细胞在TAO患者眼眶组织的炎症反应和纤维化中起重要作用^[26]。Th17细胞能够激活免疫细胞和OFs,促进细胞外基质的生成和眼眶组织的炎性改变,引起组织损伤和重塑^[27]。IL-17A作为Th17细胞最主要的效应因子,在诱发炎症反应中发挥关键作用。众多研究已证实TAO患者的眼眶细胞及甲状腺细胞中有IL-17A的增加^[28]。有研究显示,TAO患者外周血中Th17细胞数量

增加、活性提高^[29-30]。伴随着 TAO 的缓解, Th17 细胞数量逐渐下降^[28]。TAO 患者 OFs 及外周血中 IL-17A、IL-21、ROR γ t mRNA 表达和 IL-6、IL-23、IL-1 β 数量明显增高^[31], 并与促甲状腺素受体抗体 (thyrotropin receptor antibody, TRAb) 水平^[28]、TAO 临床活动性评分 (clinical activity score, CAS) 正相关^[32-33]。此外, CD44 作为 HA 的主要受体, 可趋化 T 细胞黏附于 OFs, 而 Th17 细胞表面高表达 CD44, 可作为招募其浸润眼眶组织的重要信号分子。

3.1 IL-17A 促进 TAO 的炎症反应 IL-17A 不仅具有强大的致炎作用, 还具有调节炎症反应的作用。IL-17A 可在全身和眼眶局部组织等多个层面调控 TAO 的炎症反应^[10,28]。TAO 患者中 IL-17A 可诱导 OFs 表达促炎基因和蛋白, 这种诱导作用具有时间依赖性及剂量依赖性, 且能被 IL-17A 中和抗体完全阻断^[18]。IL-17A 通过激活 NF- κ B 通路及 MAP 激酶 (MAPK) 刺激纤维细胞和 OFs 中的 IL-6、TNF- α 、IL-1 β 、趋化因子 (如 MCP-1、CXCL1、CXCL2、CXCL9、CXCL10、CCL7、CCL20)、粒细胞-巨噬细胞刺激因子 (GM-CSF)、细胞间黏附分子 (ICAM)、前列腺素 E2 (PGE2)、一氧化氮合成酶、共刺激分子 (CD40 和 MHC II) 等的表达, 招募炎症细胞并促进其增殖, 并将炎症细胞募集到靶细胞的黏膜表面。同时和其它炎性细胞因子 (如 TNF- α 、IFN- γ) 协同增强炎症反应^[6,30,34-35]。IL-17A 与 IL-17A 受体的结合还可促进 B 细胞分化为浆细胞而产生 TRAb。细胞因子中的 IL-6 可通过正反馈进一步促进 Th17 的分化和 IL-17A 的分泌, 激活急性期反应与补体, 不断放大细胞的免疫反应。方思捷等^[36]研究表明在 IL-17A 处理的 OFs 中, p38 MAPK 通路的活化有利于 OFs 合成和分泌促炎细胞因子。而纤维细胞和 OFs 可通过 PGE2 受体 EP2 或 EP4 介导的环磷酸腺苷 (cAMP) 途径促进 Th17 表型^[26,33]。Leskela 等^[37]发现 TAO 患者外周血中 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白-3 (TIM-3) 及半乳糖凝集素-9 (Galectin-9) 的表达减少, 而 TIM-3 和 Galectin-9 表达降低与 Th17 细胞增加有关。魏洪发^[38]推测 miR-146a 通过减弱对其靶基因白细胞介素-1 受体相关激酶 1 (IRAK1) 的抑制作用而提高 IL-17A 水平, 参与 TAO 的发病, 且 IL-17A 的水平能够反映疾病的严重程度。除此之外, IL-17A 的单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 与 TAO 的易感性有一定联系^[39]。Th17 细胞还可与 Th1 细胞协同介导 TAO 的眼眶炎症反应。李琳娜^[40]研究表明甲强龙能够抑制活动期 TAO 患者 PBMC 中 Th17 细胞的增殖及 IL-17A 表达, 糖皮质激素对 Th17 细胞的调节作用是其临床治疗 TAO 的机制之一。

除了眼眶结缔组织外, 泪腺腺泡细胞也可表达 TSHR, 是 TAO 的靶器官之一。TAO 患者泪腺的炎症会引起不同程度的干眼症状, 影像学可表现为泪腺体积增大^[41]。TAO 患者泪腺的大小与泪液中 IL-17A 等炎症因子的水平正相关^[42]。

3.2 IL-17A 推动 TAO 眼眶结缔组织的纤维化 IL-17A 能刺激多种细胞外基质 (extracellular matrix, ECM) 的基因及蛋白表达水平上调^[26]。ECM 的增加不但是推动 TAO 纤维化病变的重要因素, 还是 TAO 的重要病理特征。 α -平滑肌肌动蛋白 (α -SMA) 是成纤维细胞分化成肌成纤

维细胞的重要标志, IL-17A 在激活成纤维细胞的同时能够提高 TAO 患者 OFs 中 α -SMA 基因及蛋白的表达。IL-17A 还可通过 JNK-c-Jun 信号通路与 TGF- β 协同促进 TAO 患者来源的 CD90⁺ OF 细胞分化为肌成纤维细胞并合成 ECM^[26]。需要说明的是, 以往的研究多认为 TGF- β 能抑制大部分 T 细胞的反应, 促进抗炎的 Treg 细胞产生, 然而新近的实验表明 TGF- β 可以诱导未致敏的 T 细胞表达 ROR γ t, 促进小鼠原始 T 细胞分化成 Th17 细胞。TGF- β 有双重作用, 能够诱导原始 T 细胞分化为 Treg 细胞或 Th17 细胞。在无其他细胞因子参与时可抑制 Th17 细胞分化, 但在细胞因子 IL-6、IL-23、IL-1、TNF- α 等参与时促进 Th17 细胞的分化, 且帮助 Th17 细胞抵抗 Treg 细胞的抑制作用^[43]。

OFs 对 IL-17A 反应的异质性使 IL-17A 对 OFs 在纤维化和脂肪化的平衡中更趋向于发生纤维化改变。在 TAO 的整个病程中, 无论球后脂肪组织增生的多少, 患者的眼眶结缔组织最终都会发生不同程度的纤维化变性。

3.3 IL-17A 抑制 TAO 眼眶结缔组织的成脂分化 TAO 中被激活的 T 细胞能够产生促进脂肪生成的前列腺素, 刺激前脂肪细胞分化为成熟脂肪细胞, 扩大眼眶组织体积。然而 IL-17A 可通过 GSK-3 β -CEBP/ α 通路抑制 TAO 的成脂分化过程。IL-17A 有利于 CD90⁺ OF 中脂肪的降解, 在成脂分化的早期阶段加速脂肪相关蛋白的分解代谢, 在中后期阶段能对过氧化物酶体增殖物激活受体 γ (PPAR- γ) 激动剂介导的眼眶脂肪细胞的分化产生直接干扰作用^[29]。而 IL-6、IL-4、IL-10 等能够提高眼眶组织中 TSHR 的表达, 促进脂肪转化。上述证据表明, IL-17A 可在一定程度上抑制 TAO 眼眶结缔组织的成脂分化。

3.4 Th17 细胞其他细胞因子对 TAO 的影响 IL-21、IL-23 虽然不是 Th17 细胞所特有的, 但它们能够维持 Th17 细胞的表型及功能。体外实验表明, IL-21 单独作用能够引起少量 Th17 细胞的产生, 和 TGF- β 协同刺激后能够促进 Th17 细胞大幅增殖, 上调 IL-23R 和 ROR γ t 的表达^[44]。IL-21 还可诱导 IL-6 缺失的 T 细胞分化为 Th17 细胞, 提示 IL-21 可能作用在 IL-6 下游, 能在一定程度上取代 IL-6。IL-21 结合 IL-21 受体能通过 JAK/STAT 信号通路促进 T 细胞增殖, 使免疫细胞活化。TAO 患者外周血中 IL-21 水平增加^[27]。

IL-23 可诱导 Th17 细胞分泌更多的 IL-17A, 同时分泌 IL-22, 稳定和扩增 Th17 细胞的表型^[44]。未致敏的 T 淋巴细胞分化成 Th17 细胞的同时生成有抗炎作用的 IL-10, 可抑制 Th17 细胞的致炎能力, 然而 IL-23 能够降低 IL-10 的表达, 提高 IL-17A 的表达及致病效应。IL-23 与其受体的结合能够激活 Janus 激酶 (Jak2 和 Tyk2), 形成 STAT 的对接位点, STAT 的磷酸化可激活 IL-17A 和 IFN- γ 的转录。有研究提示 IL-23R SNP 变异也与 TAO 的易感性有关。李红林等^[45]报道了 IL-23 在 TAO 患者外周血中表达升高。

4 Treg 细胞在 TAO 发生发展中的作用

Treg 细胞膜受体和 MHC II 类分子相互作用, 递呈促甲状腺素受体肽, 参与 TAO 的发病过程。Treg 细胞的减少使机体对 TSHR 的免疫耐受降低, 导致甲状腺自身抗体的产生和活化, 尤其是 TRAb 的活化^[46]。研究表明, Treg

细胞在TAO患者PBMC中所占的比例较GD组、健康组下降^[47]。TAO患者Foxp3 mRNA的表达显著降低^[29]。临床研究发现,通过利妥昔单抗(Rituximab)治疗后的重度TAO患者,其体内Treg细胞的水平得到明显提升。

4.1 PD-1 增强 Treg 细胞的免疫耐受功能延缓 TAO 进展

活化的 Treg 细胞表面可表达程序性死亡受体 1 (PD-1)。PD-1 是负性共刺激分子,它通过与其配体 PD-L1、PD-L2 的结合,增强 Treg 的免疫耐受功能^[48]。TAO 患者外周血 PD-1 及 PD-L1 阳性的 Treg 细胞数少于 GD 患者及健康人,PD-1/PD-L1 低于 GD 患者。TAO 患者经糖皮质激素冲击治疗后外周血 CD4⁺ T 细胞表面 PD-1 表达率上调,同时 TRAb 滴度、CAS 评分改善。糖皮质激素能够刺激 Treg 细胞分泌 TGF- β 、IL-10 等细胞因子。增加 Treg 细胞因子分泌、上调 T 细胞表面 PD-1 表达率可能是糖皮质激素抑制 TAO 自身免疫反应的机制之一^[49]。Shi 等^[50]发现 Treg 细胞表面的 PD-1 可向树突状细胞(DC)传递负向信号,减少 DC 表面 CD40、CD80、CD86 的表达,引发 DC 的成熟障碍,抑制 DC 的抗原递呈功能。

4.2 雌激素增强 Treg 细胞数目延缓 TAO 进展

Treg 的功能受雌二醇(E2)的正性调控,是 E2 发挥免疫抑制、抗炎及增加免疫耐受等作用的中介因子。体内及体外实验均证实 E2 可以增加 Treg 细胞数目,使 Treg 表达 Foxp3 增多,TGF- β 、IL-10 分泌增加^[51],从而加强 Treg 细胞的免疫抑制作用。伴随雌激素水平的改变,Treg 的数量及功能也发生改变^[52]。因雌激素受体(ER α)基因多态性的影响,不同个体 E2 的生物学效应不同,这可能是造成 TAO 患者疗效差异较大的原因之一。研究表明 TAO 患者 ER α 基因 Xba I 位点 AA 基因携带者的 ER 含量的降低能够直接影响 E2 对 Treg 的作用,造成 Treg 数目或功能的下降,这可能是女性 TAO 发生的机制之一^[53]。

4.3 差异研究探讨

尽管多数研究认为 TAO 患者体内 Treg 细胞减少,免疫抑制作用下降。但也有一些研究出现了不同的结果。有研究显示 TAO 患者外周血中 Treg 细胞较健康者增多,但其抑制作用明显下降^[54]。也有研究显示 TAO 患者外周血 Treg 细胞数目和健康者无差异。造成这些差异的原因可能是:(1)炎症部位的大量炎症因子能够引起负反馈调节而提高 Treg 的数量。甲状腺自身免疫性疾病患者外周血 Treg 细胞数目的增加是一种代偿反应,且与 TAO 发病相关的主要是 Treg 细胞功能的衰退^[55];(2)不同研究对 Treg 细胞的界定不一。对 Treg 细胞的定义有 CD4⁺CD25⁺T 细胞、CD4⁺Foxp3⁺T 细胞、CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T 细胞的不同。激活的 CD4⁺T 细胞同样表达 CD25,把 CD4⁺CD25⁺作为 Treg 细胞的标志可造成结果偏高;而 CD4⁺Foxp3⁺T 细胞根据是否表达 CD45RA、Foxp3 和 CD25 又可分为 3 个亚群,只标记 Foxp3 会造成结果偏低。目前多数研究认为用 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T 细胞界定 Treg 细胞较为合适^[56];(3)忽视了性别对免疫系统的影响。雌激素是一种免疫调节剂,能够调节 Treg 细胞的表型^[52];(4)TAO 发展的不同阶段和 CAS 的差异会影响眼眶结缔组织的免疫炎症进程;(5)不同检测方法对检测结果也会产生影响。

5 Th17/Treg 细胞失衡促进 TAO 发展

多种自身免疫性疾病中均存在 Th17/Treg 稳态的破

坏^[43]。国内外研究发现 Th17/Treg 失衡同样参与了 TAO 的发生发展,并在一定程度上反映 TAO 的严重程度^[56]。Li 等^[7]发现 TAO 患者 Th17/Treg 比值升高。Th17 细胞和 Treg 细胞的诱导分化可相互排斥,两者调节作用相反。有学者认为 Treg 细胞不仅参与了 Th17 细胞的分化,其本身也能够向 Th17 细胞转化^[57]。部分研究认为,TAO 激素治疗后症状的缓解伴随着其免疫系统重新进入一种免疫稳态^[58]。自身免疫性甲状腺疾病患者发病和缓解两个阶段的 T 细胞表面受体(T cell receptor, TCR)免疫组库的多样性、克隆迁移、克隆扩增和分布都没有大的变化,已缓解的 TAO 患者外周血中还存在针对 TSHR 的自身反应性 T 细胞,但其 Th17/Treg 细胞降低,Th17/Treg 平衡在一定程度上得到恢复^[59]。有学者对多发性硬化症患者和强直性脊柱炎患者接受造血干细胞移植后的免疫状态进行动态监测,结果显示尽管经历了大剂量化疗和造血干细胞移植,患者体内依然存在大量致病性 T 细胞^[60]。这也说明自身免疫性疾病的缓解不是通过消除反应性克隆,而是通过重建免疫平衡来实现的。这在一定程度上也佐证了 Th17/Treg 细胞失衡对自身免疫性疾病的重要作用。Th17/Treg 细胞平衡的不稳定性可能是 TAO 容易复发的原因之一^[61]。Th17/Treg 细胞影响 TAO 自身免疫反应的机制见图 1。

6 总结和展望

综上,Th17 细胞可促进 TAO 的炎症反应及眼眶结缔组织的纤维化,抑制 TAO 眼眶结缔组织的成脂分化。Treg 细胞可抑制 TAO 的免疫反应,维持免疫耐受。TAO 的发生发展和 Th17/Treg 细胞免疫失衡密切相关。但目前关于 Th17/Treg 细胞及其下游靶基因等作用于 TAO 的具体机制尚不完全明了,有待进一步研究。目前虽已有针对 IL-17A 的多种单抗抑制剂被成功开发,但尚未在临床大范围应用于对 TAO 的治疗。继续研究 Th17/Treg 细胞对 TAO 影响的机制、研发调节 Th17/Treg 失衡的单抗治疗药物或中和异常表达细胞因子的制剂,可为 TAO 的防治提供新的思路和方法。

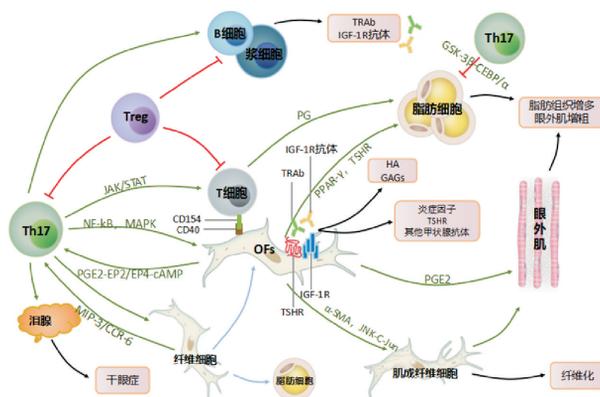


图 1 Th17/Treg 细胞对 TAO 自身免疫反应的影响模式图
Th17:Th17 细胞;Treg:Treg 细胞;TRAb:促甲状腺素受体抗体;TSHR:促甲状腺激素受体;IGF-1R:胰岛素样生长因子 1 受体;HA:透明质酸;GAGs:糖胺聚糖;PG:前列腺素。绿色箭头:促进或刺激;蓝色箭头:分化;黑色箭头:引起症状或免疫指标异常;红色抑制符:抑制或下调。

参考文献

- 1 Bartalena L, Kahaly GJ, Baldeschi L, *et al.* The 2021 European Group on Graves' orbitopathy (EUGOGO) clinical practice guidelines for the medical management of Graves' orbitopathy. *Eur J Endocrinol* 2021;185(4):G43-G67
- 2 Wang Y, Smith TJ. Current concepts in the molecular pathogenesis of thyroid-associated ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(3):1735-1748
- 3 Smith TJ, Hegedüs L. Graves' disease. *N Engl J Med* 2016;375(16):1552-1565
- 4 Estcourt S, Quinn AG, Vaidya B. Quality of life in thyroid eye disease: impact of quality of care. *Eur J Endocrinol* 2011;164(5):649-655
- 5 Wiersinga WM. Advances in treatment of active, moderate-to-severe Graves' ophthalmopathy. *Lancet Diabetes Endocrinol* 2017;5(2):134-142
- 6 Dik WA, Virakul S, van Steensel L. Current perspectives on the role of orbital fibroblasts in the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *Exp Eye Res* 2016;142:83-91
- 7 Li C, Yuan JH, Zhu YF, *et al.* Imbalance of Th17/treg in different subtypes of autoimmune thyroid diseases. *Cell Physiol Biochem* 2016;40(1-2):245-252
- 8 Smith TJ, Janssen JAMJL. Building the case for insulin-like growth factor receptor - I involvement in thyroid-associated ophthalmopathy. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017;7:167
- 9 范先群. 重视甲状腺相关眼病的基础研究和药物研发. *中华实验眼科杂志* 2020;38(11):905-909
- 10 Fang SJ, Huang YZ, Wang SW, *et al.* IL-17A exacerbates fibrosis by promoting the proinflammatory and profibrotic function of orbital fibroblasts in TAO. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101(8):2955-2965
- 11 Taylor PN, Zhang L, Lee RWJ, *et al.* New insights into the pathogenesis and nonsurgical management of Graves orbitopathy. *Nat Rev Endocrinol* 2020;16(2):104-116
- 12 Bahn RS. Current insights into the pathogenesis of Graves' ophthalmopathy. *Horm Metab Res* 2015;47(10):773-778
- 13 Smith TJ. Potential roles of CD34+ fibrocytes masquerading as orbital fibroblasts in thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104(2):581-594
- 14 Gillespie EF, Raychaudhuri N, Papageorgiou KI, *et al.* Interleukin-6 production in CD40 - engaged fibrocytes in thyroid-associated ophthalmopathy: involvement of Akt and NF-κB. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2012;53(12):7746-7753
- 15 Moon J, Lee SY, Choi JW, *et al.* Metformin ameliorates Scleroderma via inhibiting Th17 cells and reducing mTOR-STAT3 signaling in skin fibroblasts. *J Transl Med* 2021;19(1):192
- 16 Zake T, Kalere I, Upmale-Engela S, *et al.* Plasma levels of Th17-associated cytokines and selenium status in autoimmune thyroid diseases. *Immun Inflamm Dis* 2021;9(3):792-803
- 17 Saini C, Srivastava RK, Tarique M, *et al.* Elevated IL-6R on CD4+ T cells promotes IL-6 driven Th17 cell responses in patients with T1R leprosy reactions. *Sci Rep* 2020;10(1):15143
- 18 Guo KL, Zhang XM. Cytokines that modulate the differentiation of Th17 cells in autoimmune uveitis. *J Immunol Res* 2021;2021:6693542
- 19 Yan JB, Luo MM, Chen ZY, *et al.* The function and role of the Th17/treg cell balance in inflammatory bowel disease. *J Immunol Res* 2020;2020:8813558
- 20 Xue HB, Yu XR, Ma L, *et al.* The possible role of CD4+ CD25(high) Foxp3+/CD4+ IL-17A+ cell imbalance in the autoimmunity of patients with Hashimoto thyroiditis. *Endocrine* 2015;50(3):665-673
- 21 胡晓琴, 武犁, 鄢友娥. 甲状腺相关眼病免疫相关发病机制及影响因素研究进展. *重庆医科大学学报* 2021;46(5):625-629
- 22 Zhang YJ, Guo JH, Jia R. Treg: a promising immunotherapeutic target in oral diseases. *Front Immunol* 2021;12:667862
- 23 Jang SW, Hwang SS, Kim HS, *et al.* Homeobox protein Hhex negatively regulates Treg cells by inhibiting Foxp3 expression and function. *Proc Natl Acad Sci USA* 2019;116(51):25790-25799
- 24 Soukou SW, Brockmann L, Bedke T, *et al.* Role of IL-10 receptor signaling in the function of CD4+ T-regulatory type 1 cells: T-cell therapy in patients with inflammatory bowel disease. *Crit Rev Immunol* 2018;38(5):415-431
- 25 Xie CL, Wen YT, Zhao YJ, *et al.* Clinical features of patients with bronchiectasis with comorbid chronic obstructive pulmonary disease in China. *Med Sci Monit* 2019;25:6805-6811
- 26 Fang SJ, Huang YZ, Zhong SS, *et al.* Regulation of orbital fibrosis and adipogenesis by pathogenic Th17 cells in Graves orbitopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2017;102(11):4273-4283
- 27 徐霁, 李华, 蔡春华, 等. 血清 IL-17、IL-21 与 Graves 眼病相关性研究. *中国煤炭工业医学杂志* 2017;20(4):424-427
- 28 Shen J, Li ZF, Li WT, *et al.* Th1, Th2, and Th17 cytokine involvement in thyroid associated ophthalmopathy. *Dis Markers* 2015;2015:609593
- 29 Fang SJ, Huang YZ, Liu XT, *et al.* Interaction between CCR6+ Th17 cells and CD34+ fibrocytes promotes inflammation: implications in Graves' orbitopathy in Chinese population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2018;59(6):2604-2614
- 30 潘媛, 许雪亮, 谭佳, 等. 植物凝集素诱导甲状腺相关眼病患者外周单核细胞与眼眶成纤维细胞共培养体系分泌 IL-6、IL-17A 的研究. *中华实验眼科杂志* 2016;34(8):692-698
- 31 Wei HF, Guan MP, Qin Y, *et al.* Circulating levels of miR-146a and IL-17 are significantly correlated with the clinical activity of Graves' ophthalmopathy. *Endocr J* 2014;61(11):1087-1092
- 32 Rotondo Dottore G, Torregrossa L, Caturegli P, *et al.* Association of T and B cells infiltrating orbital tissues with clinical features of Graves orbitopathy. *JAMA Ophthalmol* 2018;136(6):613-619
- 33 Fang SJ, Huang YZ, Wang NJ, *et al.* Insights into local orbital immunity: evidence for the involvement of the Th17 cell pathway in thyroid-associated ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab* 2019;104(5):1697-1711
- 34 Ichiyama K, Gonzalez-Martin A, Kim BS, *et al.* The microRNA-183-96-182 cluster promotes T helper 17 cell pathogenicity by negatively regulating transcription factor Foxo1 expression. *Immunity* 2016;44(6):1284-1298
- 35 Jain R, Chen Y, Kanno Y, *et al.* Interleukin-23-induced transcription factor blimp-1 promotes pathogenicity of T helper 17 cells. *Immunity* 2016;44(1):131-142
- 36 Fang SJ, Huang YZ, Zhong SS, *et al.* IL-17A promotes RANTES expression, but not IL-16, in orbital fibroblasts via CD40-CD40L combination in thyroid-associated ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2016;57(14):6123-6133
- 37 Leskela S, Serrano A, de la Fuente H, *et al.* Graves' disease is associated with a defective expression of the immune regulatory molecule galectin-9 in antigen-presenting dendritic cells. *PLoS One* 2015;10(4):e0123938
- 38 魏洪发. Graves 眼病患者血中 miRNA-146a、IL-17 的表达特征及临床意义. *南方医科大学* 2014

- 39 Qi Y, Zheng H, Liu N, *et al.* Genetic association between Interleukin-17A gene polymorphisms and the pathogenesis of Graves' disease in the Han Chinese population. *Clin Endocrinol* 2016;84(2):265-270
- 40 李琳娜. Th17 细胞及相关细胞因子在 Graves 眼病中的作用及机制研究. 南方医科大学 2013
- 41 Huh HD, Kim JH, Kim SJ, *et al.* The change of lacrimal gland volume in Korean patients with thyroid-associated ophthalmopathy. *Korean J Ophthalmol* 2016;30(5):319-325
- 42 Huang DP, Luo Q, Yang HS, *et al.* Changes of lacrimal gland and tear inflammatory cytokines in thyroid-associated ophthalmopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2014;55(8):4935-4943
- 43 张艳, 谢敏, 左新河, 等. 中医药干预自身免疫性甲状腺疾病 Th17/Treg 平衡的研究进展. 中国实验方剂学杂志 2021;27(10):231-238
- 44 Rajaii F, McCoy AN, Smith TJ. Cytokines are both villains and potential therapeutic targets in thyroid-associated ophthalmopathy: from bench to bedside. *Expert Rev Ophthalmol* 2014;9(3):227-234
- 45 李红林, 刘艳秋, 郑绍同, 等. 甲状腺相关眼病患者血清 IL-17 和 IL-23 的表达及临床意义. 中国现代医学杂志 2018;28(30):105-108
- 46 丁静雅, 秦露丹, 徐勇, 等. Graves 病患者外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞上的 PD-1/PD-L1 的表达及意义. 现代生物医学进展 2019;19(4):718-723
- 47 Matsuzawa K, Izawa S, Okura T, *et al.* Implications of FoxP3-positive and -negative CD4(+) CD25(+) T cells in Graves' ophthalmopathy. *Endocr J* 2016;63(8):755-764
- 48 Giancchetti E, Delfino DV, Fierabracci A. Recent insights into the role of the PD-1/PD-L1 pathway in immunological tolerance and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2013;12(11):1091-1100
- 49 夏晓玲, 汤玮, 孙亮亮, 等. 甲状腺相关性眼病患者外周血 CD4⁺、CD8⁺T 细胞百分比及细胞表面程序性死亡蛋白 1 表达的改变及其意义. 第二军医大学学报 2016;37(6):704-710
- 50 Shi L, Chen SH, Yang LJ, *et al.* The role of PD-1 and PD-L1 in T-cell immune suppression in patients with hematological malignancies. *J Hematol Oncol* 2013;6(1):74
- 51 徐一君, 邓勇志. 雌激素对 Treg 细胞的影响机制研究进展. 中国免疫学杂志 2021;37(21):2597-2601
- 52 何玲, 刘慧萍, 张国民, 等. Th17/Treg 细胞与卵巢早衰的关系. 中华中医药学刊 2017;35(4):897-899
- 53 张磊. 雌激素受体基因多态性与女性 Graves 眼病的关系研究. 天津医科大学 2013
- 54 Kahaly GJ, Shimony O, Gellman YN, *et al.* Regulatory T-cells in Graves' orbitopathy: baseline findings and immunomodulation by anti-T lymphocyte globulin. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96(2):422-429
- 55 Rodríguez-Muñoz A, Vitales-Noyola M, Ramos-Levi A, *et al.* Levels of regulatory T cells CD69(+) NKG2D(+) IL-10(+) are increased in patients with autoimmune thyroid disorders. *Endocrine* 2016;51(3):478-489
- 56 吕蒙, 沈洁, 李章芳, 等. Treg/Th17 细胞及相关细胞因子在 Graves 眼病中的作用及机制. 南方医科大学学报 2014;34(12):1809-1813
- 57 Siomkajto M, Mizera Ł, Szymczak D, *et al.* Effect of systemic steroid therapy in Graves' orbitopathy on regulatory T cells and Th17/Treg ratio. *J Endocrinol Investig* 2021;44(11):2475-2484
- 58 Alapati A, Deosarkar SP, Lanier OL, *et al.* Simple modifications to methimazole that enhance its inhibitory effect on tumor necrosis factor- α -induced vascular cell adhesion molecule-1 expression by human endothelial cells. *Eur J Pharmacol* 2015;751:59-66
- 59 De Groot LJ, Shin YH, Pan D, *et al.* Evaluation of T cell stimulation by thyrotropin-receptor epitopes in Graves' disease. *J Endocrinol Invest* 2009;32(1):52-56
- 60 Muraro PA, Robins H, Malhotra S, *et al.* T cell repertoire following autologous stem cell transplantation for multiple sclerosis. *J Clin Invest* 2014;124(3):1168-1172
- 61 王悦, 刘宇峰, 郭辉, 等. 注射用甲泼尼龙琥珀酸钠静脉冲击治疗 Graves 眼病对 T 细胞受体的影响. 安徽医科大学学报 2020;55(11):1797-1801