

转化生长因子- β 在器官移植中作用的研究进展

董明 王欣

基金项目:天津市卫生局科技基金(2015KY12,2014KZ127)

作者单位:300052 天津市,天津医科大学总医院肺部肿瘤外科(董明)

300134 天津市,天津市儿童医院小儿外科(王欣)

通讯作者:王欣,E-mail:vivianwang1983@163.com

【摘要】 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)超家族是一类经典的动物蛋白,作用于组织分化、生长发育以及免疫系统。其通过对一系列免疫细胞的调控,介导抗炎性反应,在动物移植模型中,发挥诱导免疫耐受的作用。TGF- β 诱导免疫耐受的核心源于其诱导 Foxp3 以及对 CD4⁺T 细胞的调节能力。与此同时,TGF- β 与一些炎性细胞因子,例如 IL-6,IL-1 共同驱动 Th17 的分化,发生免疫排斥,伴随着其他一些信号通路的激活,导致移植器官发生纤维化,影响移植器官的存活。因此,TGF- β 在器官移植的作用具有其“两面性”。

【关键词】 转化生长因子- β ;器官移植;免疫耐受;器官纤维化;移植排斥反应

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.01.015

转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β) 属于一组新近发现的调节细胞生长和分化的 TGF- β 超家族。TGF- β 能使正常的成纤维细胞表型发生转化,后来逐渐发现,在生长发育和免疫等诸多病理生理过程中,TGF- β 均发挥着重要的作用。在哺乳动物中,存在着 3 种异构体,分别被 TGF- β 1, TGF- β 2 和 TGF- β 3 三种不同的基因编码。其中, TGF- β 1 主要在免疫系统中发挥作用,并且在维持自体免疫耐受中发挥核心作用。早期研究^[1,2]证明,TGF- β 1 能够使小鼠产生早发性多器官免疫病理改变。TGF- β 的配体家族与丝氨酸/苏氨酸受体激酶结构的 I 型和 II 型受体在细胞表面结合,启动多种生理过程,包括胚胎发育、免疫、血管生成及创面愈合等^[3]。TGF- β 家族同系物参与多种病理生理过程,同时在免疫功能的调控中发挥着重要的作用^[4]。在许多动物模型中,TGF- β 介导的免疫调节,特别是调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg) 在促进免疫耐受和移植存活中发挥重要作用^[5]。然而其不利的一面则主要是增加肌成纤维细胞的分化,从而导致移植器官间质纤维化,最终使移植器官失去功能,影响预后。本文就 TGF- β 在器官移植中的作用的研究进展作一综述。

1 TGF- β 与免疫耐受

TGF- β 是一类作用较广泛的免疫抑制细胞因子,例如在呼吸系统中发挥作用,阻断过敏性炎症^[6]。其对 T 细胞的影响

则更为重要,特别是可以刺激幼稚 CD4⁺T 细胞分化为 Foxp3⁺Treg,从而抑制 T 细胞的活性和增殖^[7]。表达转录因子 Foxp3 的 CD4⁺T 细胞可以说是介导外周免疫耐受最重要的细胞类型^[8]。Treg 分为两种亚型,胸腺来源 Treg 细胞在离开胸腺前表达 Foxp3,独立于 TGF- β 发挥作用,用于调节自体免疫耐受;相对的,外周型 Treg 细胞依赖 TGF- β 信号通路,在耐受性条件下(例如未成熟树突状细胞伴低水平共刺激分子)经抗原刺激由幼稚 CD4⁺细胞分化而来^[9]。在 TGF- β 诱导 Foxp3 表达的过程中,T 细胞抗原受体发挥了重要的作用,同时 TGF- β 阻断共刺激受体,阻断抗原提呈,也都促进了 Foxp3 的表达^[10]。近期有研究^[11-14]表明,TGF- β 可以诱导 Foxp3,并调节 CD8⁺T 细胞、 γ δ T 细胞等其他表型 T 细胞以及杀伤细胞,甚至巨噬细胞。这些研究也暗示了会有其他细胞类型参与到 TGF- β 诱导 Foxp3 免疫耐受的过程中。同时,TGF- β 诱导免疫耐受可能也是有 Foxp3 依赖或非 Foxp3 两条途径产生的,尽管后者可能会与 Foxp3 细胞产生协同作用。例如,TGF- β 独立于 Foxp3 上调 CD73 的表达,从而上调免疫抑制性分子腺苷表达,以抑制免疫反应^[15,16]。还有一些其他类型的 T 细胞通过释放抑制性的细胞因子,而非 Foxp3 的表达参与免疫调节,例如 IL-35,IL-10 诱导调节 T 细胞^[17,18]。尽管这些细胞因子都有很强的免疫调节作用,但 TGF- β 依旧是调节 T 细胞最重要的核心因素。

与此同时, TGF- β 抑制辅助性 T 细胞(helper T cell, Th) 的分化。而且, TGF- β 诱导 Foxp3 和调节 CD4⁺T 细胞的能力有可能被一些炎性因子, 如 IFN- γ , IL-4 等影响。因此, TGF- β 可促进一些促炎性因子如 Th9 和 Th17 对 CD4⁺T 细胞的分化。TGF β 与 IL-4 联合可以诱导 Th9 细胞产生 IL-9, 目前这类细胞因子在免疫排斥上的作用尚不是很清楚。然后, 有明显证据证明, Th17 细胞会参与免疫排斥反应的过程^[19,20]。TGF- β 和 IL-6 共同激活 Th17 的分化, 同时转录因子 ROR γ T 和 STAT3 的表达也参与其中。这主要是因为 TGF- β 同时促进 Foxp3 和 ROR γ T 的表达, 而 Foxp3 拮抗 ROR γ T, IL-6 可以抑制 Foxp3, 从而释放了 ROR γ T。Th17 特征的细胞因子是 IL-17A, IL-17F 和 IL-22, 而这些促炎性因子构成了移植耐受的一道屏障。近期的研究^[21,22]表明, Th17 在移植排斥反应中扮演了很重要的角色。但目前尚不清楚 Th17 本身是否直接参与免疫排斥或者直接构成其中的某一环节。在 TGF- β 诱导 Foxp 及 Th17 的过程中, 许多因素共同作用决定二者的平衡, 例如 IL-1, TNF- α 更有利于 IL-17A 的表达。另外, TGF- β 本身的浓度对之也有影响, 低浓度有利于 Th17 的产生, 而高浓度 TGF- β 则促进 Foxp3 的表达^[23]。在临床治疗过程中, 维甲酸和 mTOR 抑制剂则可以协同 TGF- β 促进 Foxp3 的表达, 从而诱导 Treg 的分化。尽管维甲酸不能单独促进 Foxp3 的表达, 但可以协同 TGF- β 与 Th17 促进 Foxp3 表达和 Treg 的分化。与此同时, 维甲酸还可以降低 Foxp3 抑制性因子的敏感性, 适用于移植术后大量炎性因子释放的严重炎症反应^[24]。免疫抑制剂雷帕霉素抑制 Akt-mTOR 信号通路, 协同 TGF- β 促进 Foxp3 的表达以及 Treg 的分化^[25], 从而诱导免疫耐受, 保护移植器官长期存活。

2 TGF- β 与器官纤维化

纤维化是器官各类慢性疾病的一个主要表现, 也是器官功能衰竭最主要的原因。在器官移植术后, 移植器官纤维化也常被认为与免疫排斥反应相关。肾间质纤维化是肾移植术后患者长期生存的主要因素, 治疗措施主要以免疫抑制剂为主, 其发病机理涉及多个方面, 包括免疫排斥反应、炎症、缺血再灌注损伤等, 而 TGF- β 在其中扮演着重要的角色。许多免疫细胞如 Th17、CD10T 细胞、CD3⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞, 细胞因子 IL-17、IL-22 等与 TGF- β 相互作用, 促使肌成纤维细胞分化, 内皮细胞-间充质转化 (endothelial-mesenchymal transition, EMT), 最终引起肾间质纤维化^[26]。闭塞性细支气管炎是肺移植术后最常见的并发症, 也是肺移植慢性免疫排斥反应的主要临床表现, 极大影响了肺移植生存期。其主要病理表现为小气道进行性纤维化闭塞和炎性细胞浸润。TGF- β 在闭塞性细支气管炎患者中呈高表达状态, 并参与到气道的纤维化过程当中^[27]。

TGF- β 通过多种信号通路参与到组织器官纤维化过程

中, 其中最主要的是 TGF- β /Smad 信号通路。TGF- β 与 II 型 TGF- β 受体结合, 调节下游 Smad。Smad 家族包括 Smad1-8 共 8 种蛋白, 其中 Smad1, 2, 3, 5, 8 为受体激活型, Smad4 是共同伴侣型。Smad 6 和 7 为抑制型, 具有抑制受体激活型信号转导的作用。TGF- β 激活 Smad1/5/8, 然后活化 Smad2/3, 与之磷酸化后与 Smad4 形成三聚体进入细胞核转录激活下游靶基因, 从而诱导纤维化的形成^[28]。与此同时, TGF- β 还可以通过非 Smad 信号通路促进 EMT, 从而导致器官纤维化的发生。例如 TGF- β -MAPK 信号通路通过干扰细胞间的连接, 促进心包迁徙, 细胞骨架重排, 导致 EMT, 从而促使纤维化的发生^[29]。TGF- β 还可以通过下调 Wnt 信号通路拮抗剂 DKK1 的表达, 激活经典的 Wnt/ β -catenin 信号通路来促进纤维化的发生^[30]。

3 前景与展望

TGF- β 作为一种多功能的细胞因子参与到各项生理功能中, 其调控功能范围广, 有效性强, 成为应用于炎性疾病以及器官移植领域一个强有力的靶点。然而其产生生理效应的多面性使其临床应用依旧面临很多问题。目前, 正在研究的应用方式包括抑制炎症, 直接体内注射诱导免疫耐受, 体外诱导患者 Treg 表型。其中直接体内注射是效果较差的方式, 因为一方面 TGF- β 诱导纤维化的作用无法从免疫抑制作用分离开, 而可能导致预后不良; 另一方面, 其免疫抑制作用可能会带来感染或者肿瘤的风险^[5]。

近年来, 以 TGF- β 为调控核心的“蠕虫免疫”疗法逐渐作为调节炎性疾病的一种方式进入研究者的视野。从安全性上考虑, 注入少量活体蠕虫是无害的, 目前世界范围内有数百万人存在慢性蠕虫感染, 而并未造成健康隐患^[31]。然而, 调节免疫平衡的机制和致病机理尚不明确, 似乎与蠕虫的种类以及宿主的基因型有关, 因此还是会存在少数宿主不耐受的情况。尽管如此, 28 个蠕虫感染治疗的临床试验正在进行并有部分已经完成, 实验结果仍面临许多挑战, 其诱导免疫耐受的功绩还有很多路要走^[32]。

联合疗法是近年来快速发展的一项治疗理念, TGF- β 协同 Treg 效应配体共同作用, 调控下有细胞分化。例如雷帕霉素协同 TGF- β 诱导 Foxp3 表达, 使得 Treg 调节免疫效应强于 Th17 细胞产生的免疫排斥作用^[33]。维甲酸则被认为可以减少炎性因子和共刺激因子对 TGF- β 诱导 Foxp3 表达的不利影响^[24]。

TGF- β 及协同其他方式诱导 Treg 细胞免疫治疗诱导免疫耐受近年来飞速发展, 并且展示出了巨大潜力和良好的疗效, 是一项非常吸引人的治疗策略, 但是仍有许多问题和障碍摆在我们面前, 特别是 TGF β 所引起的移植器官纤维化的作用。因此, 如何去除 TGF β 的“两面性”, 增强其诱导免疫耐受, 减弱其诱导纤维化的作用将是未来研究的热点, 同时也

将为器官移植患者带来新的福音。

4 参考文献

- 1 Shull MM, Ormsby I, Kier AB, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor- β 1 gene results in multifocal inflammatory disease. *Nature*, 1992, 59: 693-699.
- 2 Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, et al. Transforming growth factor β 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 770-774.
- 3 Tran DQ. TGF- β : the sword, the wand, and the shield of FOXP3 (+) regulatory T cells. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4: 29-37.
- 4 Regateiro FS, Howie D, Cobbold SP, et al. TGF- β in transplantation tolerance. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23: 660-669.
- 5 Johnston CJ, Smyth DJ, Dresser DW, et al. TGF- β in tolerance, development and regulation of immunity. *Cell Immunol*, 2016, 299: 14-22.
- 6 Frischmeyer-Guerrero PA, Guerrero AL, Oswald G, et al. TGF β receptor mutations impose a strong predisposition for human allergic disease. *Sci Transl Med*, 2013, 5: 194-195.
- 7 Lan Q, Zhou X, Fan H, et al. Polyclonal CD4+Foxp3+ Treg cells induce TGF β -dependent tolerogenic dendritic cells that suppress the murine lupus-like syndrome. *J Mol Cell Biol*, 2012, 4: 409-419.
- 8 Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function. *Annu Rev Immunol*, 2012, 30: 531-564.
- 9 Abbas AK, Benoist C, Bluestone JA, et al. Regulatory T cells: recommendations to simplify the nomenclature. *Nat Immunol*, 2013, 14: 307-308.
- 10 Oliveira VG, Caridade M, Paiva RS, et al. Sub-optimal CD4⁺T-cell activation triggers autonomous TGF- β -dependent conversion to Foxp3+ regulatory T cells. *Eur J Immunol*, 2011, 41: 1249-1255.
- 11 Sawamukai N, Satake A, Schmidt AM, et al. Cell-autonomous role of TGF β and IL-2 receptors in CD4⁺ and CD8⁺ inducible regulatory T-cell generation during GVHD. *Blood*, 2012, 119: 5575-5583.
- 12 Yi Y, He HW, Wang JX, et al. The functional impairment of HCC-infiltrating $\gamma\delta$ T cells, partially mediated by regulatory T cells in a β -TGF and IL-10-dependent manner. *J Hepatol*, 2013, 58: 977-983.
- 13 Monteiro M, Almeida CF, Caridade M, et al. Identification of regulatory Foxp3+ invariant NKT cells induced by TGF- β . *J Immunol*, 2010, 185: 2157-2163.
- 14 Gong D, Shi W, Yi SJ, et al. TGF β signaling plays a critical role in promoting alternative macrophage activation. *BMC Immunol*, 2012, 13: 31.
- 15 Kaku H, Cheng KF, Al-Abed Y, et al. A novel mechanism of B cell-mediated immune suppression through CD73 expression and adenosine production. *J Immunol*, 2014, 193: 5904-5913.
- 16 Regateiro FS, Howie D, Nolan KF, et al. Generation of anti-inflammatory adenosine by leukocytes is regulated by TGF- β . *Eur J Immunol*, 2011, 41: 2955-2965.
- 17 Amari A, Eftekar M, Moazzeni S, et al. In Vitro Generation of IL-35-expressing Human Wharton's Jelly-derived Mesenchymal Stem Cells Using Lentiviral Vector. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2015, 14: 416-426.
- 18 Boks MA, Kager -Groenland JR, van Ham SM, et al. IL-10/IFN γ co-expressing CD4 (+) T cells induced by IL-10 DC display a regulatory gene profile and downmodulate T cell responses. *Clin Immunol*, 2016, 162: 91-99.
- 19 Matignon M, Aissat A, Canoui-Poitrine F, et al. Th-17 Alloimmune Responses in Renal Allograft Biopsies From Recipients of Kidney Transplants Using Extended Criteria Donors During Acute T Cell-Mediated Rejection. *Am J Transplant*, 2015, 15: 2718-2725.
- 20 Larocca RA, Moraes-Vieira PM, Bassi EJ, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells increase skin allograft survival and inhibit Th-17 immune response. *PLoS One*, 2013, 8: e76396.
- 21 Zheng HL, Shi BY, Du GS, et al. Changes in Th17 and IL-17 levels during acute rejection after mouse skin transplantation. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2014, 18: 2720-2786.
- 22 Kwan T, Chadban SJ, Ma J, et al. IL-17 deficiency attenuates allograft injury and prolongs survival in a murine model of fully MHC-mismatched renal allograft transplantation. *Am J Transplant*, 2015, 15: 1555-1567.
- 23 Zhou L, Lopes JE, Chong MM, et al. TGF- β -induced Foxp3 inhibits T (H)17 cell differentiation by antagonizing ROR γ function. *Nature*, 2008, 453: 236-240.
- 24 Nolting J, Daniel C, Reuter S, et al. Retinoic acid can enhance conversion of naive into regulatory T cells independently of secreted cytokines. *J Exp Med*, 2009, 206: 2131-2139.
- 25 Yuan LF, Li GD, Ren XJ, et al. Rapamycin ameliorates experimental autoimmune uveoretinitis by inhibiting Th1/Th2/Th17 cells and up-regulating CD4+CD25+ Foxp3 regulatory T cells. *Int J Ophthalmol*, 2015, 8: 659-664.
- 26 Hegner B, Schaub T, Dragun D. Editorial: Triple-agent TGF- β . *J Leukoc Biol*, 2013, 93: 459-462.
- 27 DerHovanessian A, Weigt SS, Palchevskiy V, et al. The Role of TGF- β in the association between primary graft dysfunction and bronchiolitis obliterans syndrome. *Am J Transplant*, 2016, 16: 640-649.

Tseng 等^[9]认为 COMP 在各类型的关节炎患者的体液中都可以检出, 其中关节液中的浓度是血清中的 10 倍,但其与其他急性炎症指标并没有明显相关性。本文研究结果显示, KOA 患者血清 COMP 水平与 ESR 呈正相关,但相关系数 r 仅为 0.413,究其原因可能与所选病例或地域差异有关, 血清 COMP 与其他指标的相关性有待进一步研究。

目前关于评估 COMP 对 KOA 临床诊断性能能力的研究较少。本文研究结果显示,血清 COMP 诊断 KOA 的临床诊断性能评价指标水平平均优于 CRP 及 ESR。由于本文研究例数尚少,所得的结论还需今后扩大样本量进一步验证血清 COMP 对 KOA 诊断的准确性。

综上所述, 血清 COMP 在 KOA 的辅助诊断方面具有较高的临床应用价值。血清 COMP 用于 KKOA 的临床病例筛选、疾病诊断、疾病监测和预后判断已被大多数学者所认可, 但将其作为一个诊断指标广泛应用于临床还需相应的循证医学依据。

4 参考文献

- 1 张军锋,刘桂芬,张爱莲,等. 影响膝关节炎患者疼痛 VAS 评分的因素分析. 中国药物与临床, 2012, 12: 642-643.
- 2 郑毅. 浅谈骨关节炎治疗的进步. 中华风湿病学杂志, 2013, 17: 793-795.
- 3 Alex N, Bastick MD, Janneke N. What are the prognostic factors for radiographic progression of knee osteoarthritis? A meta-analysis. Clin Orthop Relat Res, 2015, 473: 2969-2989.
- 4 Skoumal M, Kolarz G, Klingler A. Serum levels of cartilage oligomeric matrix protein. A predicting factor and a valuable parameter for

- disease management in rheumatoid arthritis. Scand J Rheumatology, 2003, 32: 156-161.
- 5 中华医学会骨科学分会, 骨关节炎诊治指南(2007 年版). 中华骨科杂志, 2007, 10: 793-796.
- 6 Oldberg A, Antonsson P, Lindblom K, et al. COMP (cartilage oligomeric matrix protein) is structurally related to the thrombospondins. J Biol Chem, 1992, 267: 22346-22350.
- 7 Aigner T, Mckenna L. Molecular pathology and pathobiology of osteoarthritic cartilage. Cell Mol Life Sci, 2002, 59: 5-18.
- 8 Garnero P, Piperno M, Gineys E, et al. Gross sectional evaluation of biochemical markers of bone, cartilage, and synovial tissue metabolism in patients with knee osteoarthritis: relations with disease activity and joint damage. Ann Rheum Dis, 2001, 60: 619-626.
- 9 Tseng S, Reddi AH, Di Cesare PE, et al. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP): a biomarker of arthritis. Biomarker Insights, 2009, 4: 33-44.
- 10 El-arman MM, El-Fayoumi G, El-Shal EW, et al. Aggrecan and cartilage oligomeric matrix protein in serum and synovial fluid of patients with knee osteoarthritis. Hss J, 2010, 6: 171-176.
- 11 Dahlberg L, Roos H, Saxne T, et al. Cartilage metabolism in the injured and uninjured knee of the same patient. Ann Rheum Dis, 1994, 53: 823-827.
- 12 李桂叶,张荣富,马丽,等. 软骨寡聚基质蛋白对骨关节炎软骨破坏早期诊断价值的研究. 中华风湿病学杂志, 2011, 15: 79-82.
- 13 刘志伟,严伟洪,孙晓亮,等. 软骨代谢标志物 COMP 对骨关节炎软骨改变的反应. 实用骨科杂志, 2007, 13: 469-471.

(收稿日期: 2016-01-25)

(本文编辑: 陈淑莲)

(上接第 53 页)

- 28 Li J, Li X, Xu W, et al. Antifibrotic effects of luteolin on hepatic stellate cells and liver fibrosis by targeting AKT/mTOR/p70S6K and TGFbeta/Smad signalling pathways. Liver Int, 2015, 35: 1222-1233.
- 29 Xu J, Lamouille S, Derynck R. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition. Cell Res, 2009, 19: 156-172.
- 30 Akhmetshina A, Palumbo K, Dees C, et al. Activation of canonical Wnt signalling is required for TGF-beta-mediated fibrosis. Nat Commun, 2012, 3: 735.
- 31 Hartono C, Muthukumar T, Suthanthiran M. Immunosuppressive drug therapy. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013, 3: a015487.

- 32 Fleming JO, Weinstock JV. Clinical trials of helminth therapy in autoimmune diseases: rationale and findings. Parasite Immunol, 2015, 37: 277-292.
- 33 Delgoffe GM, Kole TP, Zheng Y, et al. The mTOR kinase differentially regulates effector and regulatory T cell lineage commitment. Immunity, 2009, 30: 832-844.

(收稿日期: 2016-01-25)

(本文编辑: 李霖)