

·综述·

髓源性抑制细胞在脓毒症中的研究进展

胡晓光 刘恩贺 蔡常洁

脓毒症的自然病程一般分为早期和晚期两个阶段,早期以系统性炎症反应为主,而晚期则以抗炎反应和免疫抑制为主^[1]。尽管随着医疗水平的提高及各种诊疗指南的应用,如“拯救脓毒症运动”,脓毒症早期病死率有明显降低^[2],但是脓毒症晚期病死率及继发院内感染率仍居高不下^[3]。这些现象可能与脓毒症晚期的免疫抑制状态有关。研究者发现,在脓毒症动物模型中,随着脓毒症的进展,不仅次级淋巴组织发生淋巴细胞和抗原呈递细胞大量坏死^[4-7],T淋巴细胞衰竭及大量的调节性T细胞(Treg)聚集^[8-10],而且在骨髓、脾脏及淋巴结也会出现大量髓源性抑制细胞(MDSCs)浸润^[11-13]。

MDSCs 是一类具有免疫抑制功能的细胞群体,包括不同分化阶段的巨噬细胞、粒细胞和树突细胞^[14]。MDSCs 最早见于肿瘤免疫研究,多数研究显示:MDSCs 具有免疫抑制作用,降低机体的免疫监视功能及抗肿瘤细胞毒性^[15]。目前研究发现,在急、慢性炎症的发生发展过程中也会出现 MDSCs 聚集现象^[16],然而,它们在炎症过程中并不只表现为免疫抑制作用,而是作为炎症反应的一部分。它们的功能与所处的环境密切相关,可能对机体产生有利的影响,也可能反之。但其具体机制仍不清楚^[17]。

1 MDSCs 的生物学特性

20 世纪 80 年代研究发现,MDSCs 是一类具有免疫抑制功能的群体,能够阻断 T 淋巴细胞激活,以往被称为自然抑制细胞、未成熟髓样细胞及抑制巨噬细胞等^[18]。2007 年 Gabrilovich 等^[19]建议根据这类细胞的起源及功能统一命名为 MDSCs,是一群未分化完全的、具有免疫抑制功能的、髓系来源的异质性细胞群,是树突细胞、巨噬细胞和 / 或粒细胞的前体^[14-15]。人和小鼠体内均存在 MDSCs。在健康小鼠体内,MDSCs 占骨髓细胞的 20%~30%,占脾细胞的 2%~4%^[15]。

1.1 MDSCs 标志物:由于 MDSCs 包含了广泛的细胞种类,所以确定 MDSCs 表面抗原标志物非常困难,其细胞表面并不表达 CD3、CD19、CD57 等成熟单核细胞、巨噬细胞的标志物,亦不表达人白细胞 DR 抗原 (HLA-DR) 等主要组织相容性抗原复合物 (MHC) 类分子^[20]。在小鼠体内,MDSCs 都表达 CD11b⁺Gr-1⁺^[14-15,20],Gr-1 抗原可以分为 Ly6C 和 Ly6G 两个亚型^[21]。根据细胞表面 Ly6C 和 Ly6G 的表达程度及核的形状可以将小鼠的 MDSCs 分为 CD11b⁺Ly6C⁺Ly6C^{int}CD115^{lo} 的粒细胞型和 CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C⁺CD115⁺ 的单核细胞型^[22-23]。除了

CD11b 和 Gr-1 之外,肿瘤小鼠还会表达未成熟的骨髓标志物,如 CD31 和 ER-MP58^[24]。而对于确定人的 MDSCs 更为困难,主要有两方面原因:其一,人的 MDSCs 表面缺少 Gr-1;其二,得到 MDSCs 的途径较少,很少能通过次级淋巴组织或者网状内皮组织来获得 MDSCs,而从血液中分离 MDSCs 并不理想^[17]。人的 MDSCs 同样也分为单核细胞型和粒细胞型,两者均表达 CD33 和 CD11b^[25],同时,单核细胞型又表达 CD14⁺和弱阳性的 HLA-DR,而粒细胞型则高表达 CD15^[23],除此之外,常见的标志物还包括 CD66b、血管内皮生长因子受体 1 (VEGFR1) 和 CD34^[26]。但是,这些标志物相对于小鼠来说不具有特异性,因此,对于人 MDSCs 表面标志物的确定仍需继续研究^[17]。

1.2 MDSCs 的生成与调节:目前对于 MDSCs 的生成与调节的分子机制尚不清楚,可能存在的机制有:①粒细胞集落刺激因子(G-CSF)、巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)、粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、白细胞介素-6(IL-6)以及血管内皮生长因子(VEGF)与骨髓造血干细胞表面的相应受体结合后,激活骨髓造血干细胞内的 Janus 激酶 / 信号转导和转录激活因子 3(JAK/STAT3)信号通路,导致细胞内的还原型辅酶 II 氧化酶 (Nox2)、S100A9、S100A8、活化转录因子 CCAAT 增强子结合蛋白 β (C/EBP β) 的表达增加,从而诱导 MDSCs 细胞增殖^[27-29]。同时在 JAK/STAT3 信号通路中也会激活 STAT5,STAT5 在调节 MDSCs 细胞的存活方面有着重要的作用^[29]。②免疫反应性纤维结合素- γ (IFN- γ)、IL-1 β 与 MDSCs 表面的相应受体结合后激活 STAT1,从而调节 MDSCs 诱生型一氧化氮合酶 (iNOS) 及精氨酸酶的活性^[30]。Movahedi 等^[31]发现 STAT1 对于单核型 MDSCs 的功能调节十分重要。③IL-4 和 IL-13 与 MDSCs 细胞表面 CD124 结合后,激活细胞内的 STAT6,从而上调 MDSCs 的精氨酸酶活性^[32-33],增加转化生长因子- β (TGF- β) 的生成^[34]。④脂多糖 (LPS)、热休克蛋白 72 (HSP72) 及 S100A8/A9 可通过激活 MDSCs 表面的 Toll 样受体 (TLR),继而激活髓样分化基因 (MyD88),最后通过核转录因子- κ B (NF- κ B) 来激活 MDSCs^[13,35-36]。

1.3 MDSCs 发挥作用的主要机制:目前研究发现 MDSCs 的主要功能是通过介导 T 淋巴细胞和自然杀伤细胞来调节细胞毒性反应^[37-38]。MDSCs 可通过多种途径来调节 T 淋巴细胞的功能,主要包括增加精氨酸酶活性、一氧化氮及活性氧族含量 3 种机制^[15,39-41],并且发现不同种类的 MDSCs 调节 T 淋巴细胞的机制并不相同,单核细胞型主要通过调节活性氧族的含量来实现,而粒细胞型可通过增加精氨酸酶活性和一氧化氮的含量来实现^[23,31]。同时研究显示,MDSCs 也可通过分泌 TGF- β ^[42-43],调节 Treg 细胞^[34,44],消耗半胱氨酸^[45]以及增高

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.04.021

基金项目:国家自然科学基金(81201452);广东省自然科学基金(S2012010009104)

作者单位:510080 广东广州,中山大学附属第一医院 SICU

通信作者:蔡常洁,Email:changjiecai@hotmail.com

环氧化酶和前列腺素 E₂ 的浓度等机制来抑制免疫反应^[46]。

2 MDSCs 在脓毒症中的相关研究

目前对于 MDSCs 的研究已不仅仅局限于肿瘤相关免疫方面的研究,在非肿瘤疾病当中的研究越来越多,如自身免疫性疾病、创伤及脓毒症等急性炎症疾病,其功能与所处的环境密切相关,但其具体机制不是很清楚。

2007 年 Delano 等^[13]研究发现,在盲肠结扎穿孔术(CLP)致脓毒症模型中,随着脓毒症病程的进展,MDSCs 的数目及比例在骨髓、脾脏及淋巴结当中会持续升高,但是它们各自升高的开始时间及持续时间并不相同,MyD88 信号转导途径在 MDSCs 的增殖中有重要的意义,但是这一信号途径并不依赖于细胞表面的 TLR4 受体、TIR 结构域衔接蛋白以及干扰素- α/β 受体等。通过对脾脏 MDSCs 表型进行分析后发现,表达 CD31 的 MDSCs 比例远远高于表达 MHC II 的比例,并且在 GM-CSF 的作用下,实验组 MDSCs 可发育为树突细胞或巨噬细胞,相反,对照组 MDSCs 对 GM-CSF 并没有显示出明显的变化。体外研究显示,实验组 MDSCs 在 LPS 的刺激下可生成大量的 IL-10、TNF- α 等炎症介质,而不会产生 IL-4、IL-13,并且诱导辅助性 T 细胞 2(Th2)发生极化和 CD8⁺ 发生免疫耐受,进而调节机体的免疫反应。

2012 年 Derive 等^[12]发现,在 CLP 小鼠模型中,随着脓毒症的进展,脾脏中的 MDSCs 计数及比例同样会发生变化,并且主要发生在脓毒症的早期阶段,对其生物学进行分析发现,这群细胞在亚型上以单核细胞型 MDSCs 为主,细胞活化主要发生在脓毒症的晚期,因此研究者认为可以将 MDSCs 功能的发挥分为聚集和活化两个阶段,这两个阶段的具体机制不同。为了研究脓毒症不同阶段 MDSCs 对预后的影响,研究者将脓毒症早期和晚期得到的 MDSCs 在发生脓毒症 24 h 内注射到小鼠腹腔内,观察小鼠的预后、血及腹水中的细胞因子和细菌计数的变化,研究者发现晚期 MDSCs 主要通过调节局部的炎症反应和细胞对细菌的吞噬能力来改善脓毒症的预后,而脓毒症早期的 MDSCs 并未见明显的保护作用。

与此同时,Brudecki 等^[11]也采用 CLP 模型来研究骨髓中 MDSCs 在脓毒症中的作用,同样发现,随着脓毒症的进展,MDSCs 的计数及比例逐渐增加,并且在脓毒症晚期达到高峰。体外研究发现脓毒症早期和晚期的 MDSCs 在炎症表型是不相同的,早期的 MDSCs 主要表达 iNOS 和促炎因子,而晚期的 MDSCs 主要表达精氨酸合酶、抗炎因子 IL-10 及 TGF- β 。同时研究者发现晚期 MDSCs 幼稚细胞(CD31 表达)所占的比例明显增加,并且在体外通过 GM-CSF 的刺激,晚期的 MDSCs 继续发育为巨噬细胞和树突细胞的能力较早期的 MDSCs 明显减低。为了研究脓毒症不同阶段 MDSCs 对脓毒症预后的影响,研究者将早期和晚期得到的 MDSCs 通过尾静脉注射到脓毒症小鼠体内,发现早期的 MDSCs 可以增加炎症因子的产生,减少腹腔当中的细菌数目及增加死亡率,而晚期的 MDSCs 则产生相反的作用。

3 小结

MDSCs 是一群未分化完全的、具有免疫抑制功能的髓源

性异质细胞群,目前对于 MDSCs 细胞表面的特异性标志物仍然不太清楚,主要通过细胞的形态学、功能及细胞表面的标志物来确定,MDSCs 的可塑性很强,其功能状态与所处的环境有密切的关系;在肿瘤当中,MDSCs 主要表现为免疫抑制功能;而在急性炎症当中,特别是脓毒症当中,MDSCs 并不单单表现为免疫抑制,而是随着疾病的发展,其功能发生不同的变化。但其具体病理生理作用机制尚不太清楚。在脓毒症当中,MDSCs 的作用机制及其对脓毒症病程的进展和预后的影响仍待于进一步的研究。

参考文献

- [1] Shubin NJ, Monaghan SF, Ayala A. Anti-inflammatory mechanisms of sepsis. *Contrib Microbiol*, 2011, 17: 108-124.
- [2] Dellinger RP, Levy MM, Carlet JM, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2008. *Crit Care Med*, 2008, 36: 296-327.
- [3] Pronovost P, Needham D, Berenholtz S, et al. An intervention to decrease catheter-related bloodstream infections in the ICU. *N Engl J Med*, 2006, 355: 2725-2732.
- [4] Hiramatsu M, Hotchkiss RS, Karl IE, et al. Cecal ligation and puncture (CLP) induces apoptosis in thymus, spleen, lung, and gut by an endotoxin and TNF-independent pathway. *Shock*, 1997, 7: 247-253.
- [5] Efron PA, Martins A, Minnich D, et al. Characterization of the systemic loss of dendritic cells in murine lymph nodes during polymicrobial sepsis. *J Immunol*, 2004, 173: 3035-3043.
- [6] 董月青, 姚咏明. 脓毒症中细胞免疫紊乱的机制. *中国危重病急救医学*, 2004, 16: 636-638.
- [7] 张畔, 郭聪芳, 骆宁, 等. 脓毒症大鼠脾脏淋巴细胞凋亡的实验研究. *中国危重病急救医学*, 2009, 21: 726-728.
- [8] Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA*, 2011, 306: 2594-2605.
- [9] Venet F, Chung CS, Kherouf H, et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4⁺CD25⁺CD127⁻) contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients. *Intensive Care Med*, 2009, 35: 678-686.
- [10] 张莹, 姚咏明. 调节性 T 细胞与脓毒症关系的研究进展. *中国危重病急救医学*, 2006, 18: 695-697.
- [11] Brudecki L, Ferguson DA, McCall CE, et al. Myeloid-derived suppressor cells evolve during sepsis and can enhance or attenuate the systemic inflammatory response. *Infect Immun*, 2012, 80: 2026-2034.
- [12] Derive M, Bouazza Y, Alauzet C, et al. Myeloid-derived suppressor cells control microbial sepsis. *Intensive Care Med*, 2012, 38: 1040-1049.
- [13] Delano MJ, Scumpia PO, Weinstein JS, et al. MyD88-dependent expansion of an immature GR-1⁺CD11b⁺ population induces T cell suppression and Th2 polarization in sepsis. *J Exp Med*, 2007, 204: 1463-1474.
- [14] Marigo I, Dolcetti L, Serafini P, et al. Tumor-induced tolerance and immune suppression by myeloid derived suppressor cells. *Immunol Rev*, 2008, 222: 162-179.
- [15] Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nat Rev Immunol*, 2009, 9: 162-174.
- [16] Ostrand-Rosenberg S, Sinha P. Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. *J Immunol*, 2009, 182: 4499-4506.
- [17] Cuenca AG, Delano MJ, Kelly-Scumpia KM, et al. A paradoxical role for myeloid-derived suppressor cells in sepsis and trauma. *Mol Med*, 2011, 17: 281-292.

- [18] Young MR, Newby M, Wepsic HT. Hematopoiesis and suppressor bone marrow cells in mice bearing large metastatic Lewis lung carcinoma tumors. *Cancer Res*, 1987, 47: 100-105.
- [19] Gabrilovich DI, Bronte V, Chen SH, et al. The terminology issue for myeloid-derived suppressor cells. *Cancer Res*, 2007, 67: 425, 426.
- [20] Peranzoni E, Zilio S, Marigo I, et al. Myeloid-derived suppressor cell heterogeneity and subset definition. *Curr Opin Immunol*, 2010, 22: 238-244.
- [21] Gumley TP, McKenzie IF, Sandrin MS. Tissue expression, structure and function of the murine Ly-6 family of molecules. *Immunol Cell Biol*, 1995, 73: 277-296.
- [22] Huang B, Pan PY, Li Q, et al. Gr-1⁺CD115⁺ immature myeloid suppressor cells mediate the development of tumor-induced T regulatory cells and T-cell anergy in tumor-bearing host. *Cancer Res*, 2006, 66: 1123-1131.
- [23] Youn JI, Nagaraj S, Collazo M, et al. Subsets of myeloid-derived suppressor cells in tumor-bearing mice. *J Immunol*, 2008, 181: 5791-5802.
- [24] Rössner S, Voigtländer C, Wiethe C, et al. Myeloid dendritic cell precursors generated from bone marrow suppress T cell responses via cell contact and nitric oxide production in vitro. *Eur J Immunol*, 2005, 35: 3533-3544.
- [25] Zea AH, Rodriguez PC, Atkins MB, et al. Arginase-producing myeloid suppressor cells in renal cell carcinoma patients: a mechanism of tumor evasion. *Cancer Res*, 2005, 65: 3044-3048.
- [26] Rodriguez PC, Ernstoff MS, Hernandez C, et al. Arginase I-producing myeloid-derived suppressor cells in renal cell carcinoma are a subpopulation of activated granulocytes. *Cancer Res*, 2009, 69: 1553-1560.
- [27] Foell D, Wittkowski H, Vogl T, et al. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. *J Leukoc Biol*, 2007, 81: 28-37.
- [28] Zhang H, Nguyen-Jackson H, Panopoulos AD, et al. STAT3 controls myeloid progenitor growth during emergency granulopoiesis. *Blood*, 2010, 116: 2462-2471.
- [29] Condamine T, Gabrilovich DI. Molecular mechanisms regulating myeloid-derived suppressor cell differentiation and function. *Trends Immunol*, 2011, 32: 19-25.
- [30] Kusmartsev S, Gabrilovich DI. STAT1 signaling regulates tumor-associated macrophage-mediated T cell deletion. *J Immunol*, 2005, 174: 4880-4891.
- [31] Movahedi K, Williams M, Van den Bossche J, et al. Identification of discrete tumor-induced myeloid-derived suppressor cell subpopulations with distinct T cell-suppressive activity. *Blood*, 2008, 111: 4233-4244.
- [32] Sinha P, Clements VK, Ostrand-Rosenberg S. Reduction of myeloid-derived suppressor cells and induction of M1 macrophages facilitate the rejection of established metastatic disease. *J Immunol*, 2005, 174: 636-645.
- [33] Bronte V, Serafini P, De Santo C, et al. IL-4-induced arginase 1 suppresses alloreactive T cells in tumor-bearing mice. *J Immunol*, 2003, 170: 270-278.
- [34] Serafini P, Mgebroff S, Noonan K, et al. Myeloid-derived suppressor cells promote cross-tolerance in B-cell lymphoma by expanding regulatory T cells. *Cancer Res*, 2008, 68: 5439-5449.
- [35] Bunt SK, Clements VK, Hanson EM, et al. Inflammation enhances myeloid-derived suppressor cell cross-talk by signaling through Toll-like receptor 4. *J Leukoc Biol*, 2009, 85: 996-1004.
- [36] Greifengberg V, Ribechini E, Rössner S, et al. Myeloid-derived suppressor cell activation by combined LPS and IFN-gamma treatment impairs DC development. *Eur J Immunol*, 2009, 39: 2865-2876.
- [37] Young MR, Wright MA, Matthews JP, et al. Suppression of T cell proliferation by tumor-induced granulocyte-macrophage progenitor cells producing transforming growth factor-beta and nitric oxide. *J Immunol*, 1996, 156: 1916-1922.
- [38] Liu Q, Zhang C, Sun A, et al. Tumor-educated CD11b^{high}Ia^{low} regulatory dendritic cells suppress T cell response through arginase I. *J Immunol*, 2009, 182: 6207-6216.
- [39] Bronte V, Zanovello P. Regulation of immune responses by L-arginine metabolism. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5: 641-654.
- [40] Sica A, Bronte V. Altered macrophage differentiation and immune dysfunction in tumor development. *J Clin Invest*, 2007, 117: 1155-1166.
- [41] Rodriguez PC, Ochoa AC. Arginine regulation by myeloid derived suppressor cells and tolerance in cancer: mechanisms and therapeutic perspectives. *Immunol Rev*, 2008, 222: 180-191.
- [42] Li H, Han Y, Guo Q, et al. Cancer-expanded myeloid-derived suppressor cells induce anergy of NK cells through membrane-bound TGF-beta 1. *J Immunol*, 2009, 182: 240-249.
- [43] Yang L, Huang J, Ren X, et al. Abrogation of TGF beta signaling in mammary carcinomas recruits Gr-1⁺CD11b⁺ myeloid cells that promote metastasis. *Cancer Cell*, 2008, 13: 23-35.
- [44] Pan PY, Ma G, Weber KJ, et al. Immune stimulatory receptor CD40 is required for T-cell suppression and T regulatory cell activation mediated by myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Cancer Res*, 2010, 70: 99-108.
- [45] Srivastava MK, Sinha P, Clements VK, et al. Myeloid-derived suppressor cells inhibit T-cell activation by depleting cystine and cysteine. *Cancer Res*, 2010, 70: 68-77.
- [46] Rodriguez PC, Hernandez CP, Quiceno D, et al. Arginase I in myeloid suppressor cells is induced by COX-2 in lung carcinoma. *J Exp Med*, 2005, 202: 931-939.

(收稿日期: 2012-09-19)

(本文编辑: 李银平)

·学术活动预告·

《中华危重病急救医学》杂志天津生化杯有奖征文通知

《中华危重病急救医学》杂志编辑委员会与天津生物化学制药有限公司拟于 2013 年共同举办《中华危重病急救医学》杂志天津生化杯有奖征文活动, 现将有关事项通知如下。

- 1 征文内容及时间: 有关注射用氯化可的松琥珀酸钠在急诊、危重症领域的临床应用经验总结和基础研究。可为论著或病例报告形式, 具体书写要求和格式请参考本刊稿约(刊登于每年第 1 期第 63~64 页和第 7 期第 447~448 页), 以及在本刊刊出的论著和病例报告类论文。稿件请以“第一作者姓名+论文题目”命名, 发送至 cccm@em120.com 或 tjbp-xueshuzu@163.com, 邮件主题请注明“琥珀氨可征文”。征文截至 2013 年 6 月 30 日。
- 2 注意事项: ①尚未公开发表的论文; ②内容须具有科学性、先进性和实用性, 数据须准确无误; ③本活动只接受电子邮件投稿; ④为方便联系, 稿件上请注明: 单位、地址、邮编、电话、邮箱以及所有作者姓名。
- 3 奖项设置: 获奖名单刊登于《中华危重病急救医学》杂志上。一等奖 2 名, 赞助参加国际重要学术会议 1 次; 二等奖 3 名, 赞助参加国内重要学术会议 1 次; 三等奖 5 名, 赞助参加省内学术会议 1 次; 凡参与者均可获得精美纪念礼品 1 份。
- 4 联系人: 徐津鹏; 电话: 022-24891391, 13820882016。