

DOI: 10.13376/j.cblls/2015075

文章编号: 1004-0374(2015)05-0564-05

· 评述与综述 ·

滤泡辅助性T细胞与病毒感染性疾病研究进展

宋 杰, 胡云光, 刘龙丁*

(中国医学科学院&北京协和医学院医学生物学研究所, 云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 昆明 650118)

摘 要: 滤泡辅助性 T 细胞 (follicular helper T cells, Tfh) 作为一种新发现的 CD4⁺T 细胞亚群, 其主要功能是辅助 B 细胞增殖、分化、产生抗体, 参与体液免疫应答。由于 Tfh 细胞在体液免疫应答中的重要作用, 近年来成为研究的热点。现将概述 Tfh 细胞的发现、分化过程、相关的调控分子, 及其在病毒感染性疾病中的研究进展。

关键词: 滤泡辅助性 T 细胞; 体液免疫; 病毒感染

中图分类号: R392.12; R593 **文献标志码:** A

Research progress on follicular helper T cells and infectious diseases of virus

SONG Jie, HU Yun-Guang, LIU Long-Ding*

(Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research & Development on Severe Infections Disease, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medicine Science and Peking Union Medical College, Kunming 650118, China)

Abstract: Follicular helper T cells (Tfh), a newly defined CD4⁺T cell subset that plays an instrumental role in providing help to proliferation and differentiation of B cells for the production of antibodies and protective humoral immunity responses. Owing to the crucial function of Tfh cells, it becomes a research hotspot in recent years. In this review, we highlight advances in our understanding of Tfh cell discovery, differentiation, associated regulation molecules and the studies of virus infection diseases.

Key words: follicular helper T cells; humoral immunity; virus infection

滤泡辅助性 T 细胞 (follicular helper T cells, Tfh) 作为一种新发现的 CD4⁺T 细胞亚群, 首次被 Breitfeld 等^[1] 和 Schaerli 等^[2] 报道发现于扁桃体中。目前大量研究表明, Tfh 细胞在参与辅助 B 细胞形成生发中心 (germinal center, GC), 促使 B 细胞分化成浆细胞和记忆 B 细胞, 进而产生抗体的过程中发挥着重要作用^[3]。异常的 Tfh 细胞发育可能会使抗体产生过少或者过多, 最终导致免疫缺陷性疾病或自主免疫性疾病^[4]。因此, 进一步认识 Tfh 细胞的分化和功能, 能带来新的抗病毒策略、免疫性疾病治疗手段及疫苗研发思路。

1 Tfh细胞的发现

CD4⁺T 细胞在介导体液免疫中起着重要作用, 幼稚 CD4⁺T 细胞具有分化成为不同细胞亚群的潜能, T-bet、GATA-3、PU.1、ROR γ t、Ahr、Foxp3

和 Bcl-6 分别是调控幼稚 CD4⁺T 细胞向 Th1、Th2、Th9、Th17、Th22、Treg 和 Tfh 等不同的 T 细胞亚群分化的关键转录因子, 这些不同的 T 细胞亚群在机体内也发挥着不同的功能^[5-6]。起初, 由于 Th2 细胞分泌的 IL-4 等细胞因子能够诱导 B 细胞活化、增殖及抗体产生, 所以 Th2 细胞一直被认为是辅助 B 细胞的主要辅助性 T 细胞; 然而, 在小鼠实验中发现, 在缺乏 Th2 细胞发育的关键调节因子的情况下, 小鼠体内仍然会有 GC 形成, 并且有抗体的产生^[7-8]。2000 年, Breitfeld 等^[1] 和 Schaerli 等^[2] 发现在扁桃体中有一种定位于 B 细胞滤泡区和 GC 区的 T 细胞亚群, 具有辅助 B 细胞分化的功能, 表型

收稿日期: 2014-11-29; 修回日期: 2015-01-14

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(81373142)

*通信作者: E-mail: Liuld@imbcams.com.cn

为 $CXCR5^+CD40L^+ICOS^+$, 该细胞亚群被称为滤泡辅助性T细胞 (follicular helper T cells, Tfh)。2002年, Moser 等^[9] 提出 Tfh 细胞可能是不同于 Th1 细胞和 Th2 细胞的一个新的 T 细胞亚群, 其参与 GC 形成, 维持 GC 结构和功能, 辅助 B 细胞活化、增殖及分化过程。

2 Tfh细胞的分化

Tfh 细胞的分化是一个多步骤、多因素影响且较为复杂的过程, 经典的 Tfh 细胞的分化可以概括为主要的 3 个步骤 (图 1^[10]): (i) 幼稚 $CD4^+$ T 细胞被树突状细胞 (dendritic cell, DC) 激活; (ii) 活化的 T 细胞与 B 细胞相互作用; (iii) Tfh 细胞在 GC 处进一步分化并辅助 B 细胞分化而产生抗体。下面将详细阐述 Tfh 细胞分化的过程^[5]。

2.1 幼稚 $CD4^+$ T细胞被树突状细胞(DC)激活

幼稚 $CD4^+$ T 细胞在淋巴组织的 T 细胞区高表达趋化因子受体 7 (chemokine [C-C motif] receptor type 7, CCR7), 并迁徙于 T 细胞区的成纤维网状细胞 (fibroblastic reticular cell, FRC) 周围, FRC 可分泌 CCR7 的配体趋化因子 19/21 ([C-C motif] chemokine ligand 19/21, CCL19/21)。因此, 幼稚 $CD4^+$ T 细胞与 FRC 以动态结合形式而被限定于 T 细胞区。同时, 在 B 细胞滤泡区的幼稚 B 细胞高表达趋化因子受体 5 (chemokine [C-X-C motif] receptor, CXCR5), 其配体趋化因子 13 ([C-X-C motif] chemokine ligand 13, CXCL13) 则表达于滤泡

树突状细胞 (follicular dendritic cell, FDC) 表面, 因此, 幼稚 B 细胞与 FDC 同样以动态结合形式而被局限于 B 细胞滤泡区。正常情况下, 幼稚 $CD4^+$ T 细胞与幼稚 B 细胞各自定居于 T 细胞区和 B 细胞滤泡区, 一旦病原入侵时, 幼稚 $CD4^+$ T 细胞在 T 细胞区以快速地“变形虫游走方式”监测到已捕获抗原的 DC; 随后, DC 将抗原提呈给幼稚 $CD4^+$ T 细胞, 并为幼稚 $CD4^+$ T 细胞提供共刺激分子信号; 继而激活幼稚 $CD4^+$ T 细胞, 使幼稚 $CD4^+$ T 细胞发生第一次活化, 此时活化的 T 细胞高表达 CXCR5, 持续高表达 CXCR5 的活化 T 细胞即为 Tfh 前体细胞 (pre-Tfh cell); 最后, pre-Tfh 细胞迁移至 T-B 细胞交界处。另一方面, B 细胞滤泡区的幼稚 B 细胞不仅可自身捕获可溶性抗原, 也可接受 FDC 捕获提呈的抗原而被活化, 继而也迁移至 T-B 细胞交界处^[5, 11-12]。

2.2 活化的T细胞与B细胞相互作用

经抗原提呈而激活的 pre-Tfh 细胞和 B 细胞在 T-B 细胞交界处接触, T 细胞通过其特征性分子与 B 细胞相互作用, 如 T 细胞的信号转录因子 Bcl-6、T 细胞表面分子 (如 CD40L、ICOS、PD-1 等) 及 T 细胞分泌的细胞因子 (如 IL-6、IL-21 等), 最终引发两种 B 细胞分化命运。一方面, B 细胞可迁移至滤泡外区域, 形成短寿命的浆细胞, 分泌低亲和力抗体 IgM, 介导早期的体液免疫反应; 另一方面, 激活的 B 细胞促使 GC 形成, 并与 Tfh 细胞进一步相互作用^[3, 5]。

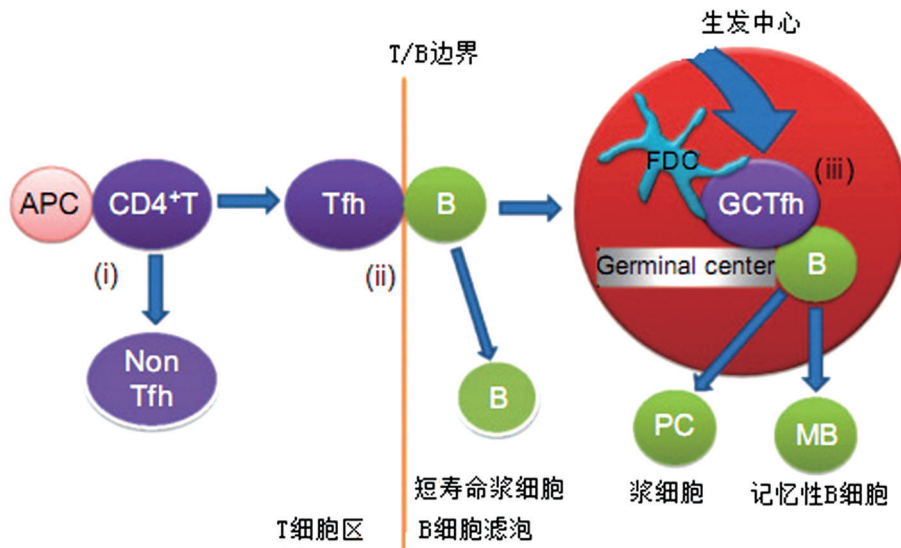


图1 Tfh细胞的分化过程^[10]

2.3 Tfh细胞在GC处进一步分化并辅助B细胞分化而产生抗体

在GC处, Tfh细胞与B细胞相互作用完成Tfh最终的分化, B细胞此时快速增殖, 经历体细胞高频突变、Ig类别转换、高亲和力B细胞选择, 随后B细胞停止增殖并接受FDC提呈的抗原, 继而呈递给Tfh细胞, 同时Tfh也为B细胞提供正调控信息使B细胞分化成长寿命浆细胞和记忆B细胞, 分泌高亲和力抗体IgG^[3]。

3 Tfh细胞相关的调控分子

Tfh细胞的活化、增殖、分化, 乃至成熟的过程都受到多个因素的调节, 这些调控Tfh细胞的分子主要包括与Tfh细胞定位相关的分子、与Tfh分化相关的分子及Tfh自身分泌的细胞因子等(表1)^[5,13]。

表1 Tfh细胞相关的主要分子

分类	分子名称	种类
Tfh细胞定位相关的分子	CXCR5	趋化因子
	CXCL13	趋化因子配体
Tfh细胞分化相关的分子	IL-2	细胞因子
	IL-6	细胞因子
	IL-12	细胞因子
	IL-21	细胞因子
	SAP	接头蛋白
	CD40L	共刺激分子
	ICOS	共刺激分子
Tfh细胞分泌相关的分子	BCL-6	转录因子
	IL-4	细胞因子
	IL-21	细胞因子
	IL-17	细胞因子
	IFN- γ	细胞因子

3.1 Tfh细胞定位相关分子

Tfh细胞的迁移主要依赖于与其定位相关的分子, 主要是CXCR5、CCR7等。CXCR5一直被认为是Tfh细胞的特异性标志, 虽然在抗原激活的CD4⁺T细胞表面均有CXCR5短暂性的表达, 但只有Tfh细胞表面会持续性表达CXCR5。在GC形成过程中, Tfh细胞高表达的CXCR5在FDC细胞分泌的CXCL13的趋化下, 促进Tfh细胞迁徙至B细胞滤泡区和GC处, 使Tfh细胞与B细胞形成稳定的接触, 为B细胞分化和存活提供信号, CCR7在上述过程中呈表达下调趋势。然而, CCR7在幼稚CD4⁺T细胞中呈现高表达, 主要是使幼稚CD4⁺T细胞在静息状态下定居于淋巴组织的T细胞区^[3,12]。

3.2 Tfh细胞分化相关分子

Tfh细胞的分化过程极为复杂, 涉及到多个步骤, 归纳起来主要有两个关键点: 第一, 幼稚CD4⁺T细胞与DC细胞之间的作用; 第二, Tfh细胞与B细胞之间的作用。

幼稚CD4⁺T细胞与DC细胞相互作用时的相关分子主要有共刺激因子(如CD28、OX40等)、细胞因子(如IL-2、IL-6、IL-12等)、转录因子(如Bcl-6、Batf、Maf、STAT、IRF4等)等^[11]。幼稚CD4⁺T细胞的活化需要双信号识别, DC作为机体内抗原提呈能力最强的细胞, 将抗原提呈给幼稚CD4⁺T细胞只是使T细胞被激活的第一信号, 要使得T细胞完全被激活, 还需要共刺激因子的协同作用。另外, DC分泌的细胞因子在Tfh细胞分化中起着关键作用: IL-2通常被认为是CD4⁺T细胞的生长因子, 但当其作用于T细胞表面的IL-2R时, 对Tfh细胞的分化产生了抑制作用^[11]。在小鼠中IL-6和IL-21主要通过STAT3来诱导幼稚CD4⁺T向Tfh细胞分化, 但在人类细胞中主要是DC分泌的IL-12通过STAT4发挥作用, 然而, 在人类和小鼠Tfh分化过程中都有Bcl-6和IL-21的表达^[14]。Bcl-6在这些信号通路中占主导地位, 且与Blimp1及T-bet互相拮抗。Bcl-6缺陷的小鼠会导致GC形成障碍, T细胞依赖抗原的抗体应答缺失^[11]。在免疫反应的早期, CXCR5的表达并不依赖Bcl-6^[15]。小鼠体内的研究则表明另一转录因子Ascl2在启动Tfh发育方面起到比Bcl-6更重要的作用, 能上调CXCR5和下调CCR7的表达水平^[16]。

Tfh细胞与B细胞相互作用时的相关分子主要有SAP蛋白、共刺激因子(CD40L、ICOS等)等。SAP蛋白主要是稳定T细胞与B细胞之间的连接, 缺乏SAP蛋白可能会造成T细胞与B细胞之间免疫突触形成障碍, 同时也会影响T细胞与B细胞之间其他信号的传递。CD40L对GC形成是必不可少的, 可使B细胞免于凋亡, 并促进它们的增殖^[3]。ICOS一直只是共刺激因子, 但目前发现Tfh细胞上CXCR5表达过量的情况下, 如缺乏ICOS, B细胞滤泡区缺乏T细胞募集能力, 因此, 这说明ICOS在Tfh细胞迁移过程中也起到一定的作用。此外, ICOS也能通过介导Tfh细胞与B细胞相互作用而诱导Tfh细胞进一步分化及Tfh在GC处的维持^[17]。

3.3 Tfh细胞分泌的细胞因子

Tfh细胞分泌的细胞因子主要有IL-21、IL-4、

IL-17、IFN- γ 等。IL-21调控Tfh细胞分化首次被鉴定于对人类Tfh细胞的基因芯片技术分析,其可形成自分泌环的形式作用于Tfh细胞,正向调控Tfh细胞的发育;IL-21还能通过STAT3促进Bcl-6的表达,继而对Tfh细胞迁移相关基因诱导表达起到很重要的作用;目前也有研究报道,IL-21作用于B细胞上的IL-21R而加强B细胞分化成浆细胞和记忆B细胞,进而诱导抗体的分泌^[18]。而IL-4、IL-17、IFN- γ 在Ig类别转换过程中发挥重要作用,且早期研究也已证实IL-4具有促进B细胞增殖的功能^[6]。因此,Tfh细胞的分化是幼稚CD4⁺T细胞、DC细胞及B细胞之间大量因子共同相互作用整合与平衡的结果。

4 病毒感染与Tfh细胞

近年来,对Tfh细胞的研究主要集中在自主免疫性疾病、免疫缺陷性疾病、病毒感染性疾病等,这些疾病均与机体内抗体产生有密切联系,抗体产生过多可造成自主免疫性疾病,抗体产生受阻可造成免疫缺陷性疾病^[12]。由于Tfh细胞主要定位于次级淋巴器官,目前的研究对象仍以次级淋巴器官中的Tfh为主。但由于其取材较难,大量研究者试图以循环血液中的Tfh细胞作为研究对象,以此来揭示Tfh细胞的特征、功能等。但就目前研究来看,循环中的Tfh细胞与疾病的发生发展存在一定的相关性^[4-5]。

目前已报道多种病毒的感染和Tfh细胞相关,包括人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)^[19-23]、猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)^[24]、乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)^[25-26]、甲型流感病毒(influenza A virus, IAV)^[27-29]和肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)^[30]等。这些病毒感染后都能提高Tfh细胞的比例,改变Tfh细胞的表型和功能,从而影响病毒的感染以及复制过程。

诱导广谱的中和抗体是艾滋病疫苗研究中的一个主要难点,鉴于Tfh细胞在抗体类型转换和高亲和力抗体成熟中的重要作用,其与HIV感染的免疫病理学研究倍受关注^[19]。AIDS患者中,Tfh细胞的比例呈升高趋势,而经抗病毒治疗的患者中,Tfh细胞比例则呈现下降趋势,且Tfh细胞的表型和功能都有可能发生变化^[20]。针对HIV的特异性抗体产生的不足也很可能和Tfh的比例相关^[21]。利用双光子显微镜技术研究表明,Tfh细胞进入生发

中心能够调节HIV感染引发的免疫反应的抗体突变过程,从而最大化体液免疫的效果^[22]。最新的研究则提示Tfh细胞对HIV疫苗应答的反应可以追踪至外周血中,从而为监控疫苗的效果提供一种潜在的方法^[23]。透彻解析HIV感染中Tfh的变化将为研发能够激发机体产生广谱的高亲和力抗体的疫苗提供理论线索。HBV患者中Tfh细胞相关的分子ICOS、PD-1、CD40L、BCL-6、IL-21、IL-4以及CXCR5的mRNA表达水平也明显高于健康人群^[25]。Boyden等^[27]构建小鼠IAV感染模型,证实了IAV感染可引起小鼠体内Tfh细胞的分化,并为引流淋巴结、肺部、脾脏等处GC的形成提供辅助。Yoo等^[28-29]进一步揭示了IAV感染的小鼠引流淋巴结处Tfh细胞反应是由晚期活化抗原提呈细胞(late activator antigen-presenting cell, LAPC)所驱动激活的,且这一过程可能是由IL-21诱导产生。Wu等^[30]研究发现,在中度及重度HFMD患者急性感染早期,体内循环中Tfh细胞数量较正常人有显著性升高,并伴随着血清中IL-6、IL-21、Bcl-6及中和抗体的升高,且Tfh细胞数量与血清中的IL-6、IL-21、Bcl-6及中和抗体具有正相关性,说明Tfh细胞及其相关的细胞因子在EV71感染所致的HFMD疾病病理形成过程中可能起到重要的体液免疫调节作用。

5 展望

Tfh细胞作为一种新的CD4⁺T细胞亚群,与多种病毒感染性疾病关系密切。深入研究Tfh在病毒感染后的比例、表型以及功能的变化将为抗病毒治疗的药物和疫苗研发开辟新的途径。此外,外周与淋巴组织中的Tfh的起源关系以及功能异同等值得研究者们更加深入地探讨。

[参 考 文 献]

- [1] Breitfeld D, Ohl L, Kremmer E, et al. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production. *J Exp Med*, 2000, 192(11): 1545-52
- [2] Schaerli P, Willmann K, Lang AB, et al. CXC chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function. *J Exp Med*, 2000, 192(11): 1553-62
- [3] Ma CS, Deenick EK, Batten M, et al. The origins, function, and regulation of T follicular helper cells. *J Exp Med*, 2012, 209(7): 1241-53
- [4] Ma CS, Deenick EK. Human T follicular helper (Tfh)

- cells and disease. *Immunol Cell Biol*, 2014, 92(1): 64-71
- [5] Crotty S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. *Immunity*, 2014, 41(4): 529-42
- [6] Cannons JL, Lu KT, Schwartzberg PL. T follicular helper cell diversity and plasticity. *Trends Immunol*, 2013, 34(5): 200-7
- [7] O'Shea JJ, Paul WE. Mechanisms underlying lineage commitment and plasticity of helper CD4⁺ T cells. *Science*, 2010, 327(5969): 1098-102
- [8] Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 621-63
- [9] Moser B, Schaerli P, Loetscher P. CXCR5⁺ T cells: follicular homing takes center stage in T-helper-cell responses. *Trends Immunol*, 2002, 23(5): 250-4
- [10] Chen M, Guo Z, Ju W, et al. The development and function of follicular helper T cells in immune responses. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9(5): 375-9
- [11] Ballesteros-Tato A, Randall TD. Priming of T follicular helper cells by dendritic cells. *Immunol Cell Biol*, 2014, 92(1): 22-7
- [12] Zhang X, Ing S, Fraser A, et al. Follicular helper T cells: new insights into mechanisms of autoimmune diseases. *Ochsner J*, 2013, 13(1): 131-9
- [13] Linterman MA, Vinuesa CG. Signals that influence T follicular helper cell differentiation and function. *Semin Immunopathol*, 2010, 32(2): 183-96
- [14] Schmitt N, Morita R, Bourdery L, et al. Human dendritic cells induce the differentiation of interleukin-21-producing T follicular helper-like cells through interleukin-12. *Immunity*, 2009, 31(1): 158-69
- [15] Liu X, Yan X, Zhong B, et al. Bcl6 expression specifies the T follicular helper cell program *in vivo*. *J Exp Med*, 2012, 209(10): 1841-52, S1-24
- [16] Liu X, Chen X, Zhong B, et al. Transcription factor achaete-scute homologue 2 initiates follicular T-helper-cell development. *Nature*, 2014, 507(7493): 513-8
- [17] Simpson TR, Quezada SA, Allison JP. Regulation of CD4 T cell activation and effector function by inducible costimulator (ICOS). *Curr Opin Immunol*, 2010, 22(3): 326-32
- [18] Pallikkuth S, Pahwa S. Interleukin-21 and T follicular helper cells in HIV infection: research focus and future perspectives. *Immunol Res*, 2013, 57(1-3): 279-91
- [19] Tangye SG, Ma CS, Brink R, et al. The good, the bad and the ugly - TFH cells in human health and disease. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(6): 412-26
- [20] Lindqvist M, van Lunzen J, Soghoian DZ, et al. Expansion of HIV-specific T follicular helper cells in chronic HIV infection. *J Clin Invest*, 2012, 122(9): 3271-80
- [21] Locci M, Havenar-Daughton C, Landais E, et al. Human circulating PD-1+CXCR3-CXCR5⁺ memory Tfh cells are highly functional and correlate with broadly neutralizing HIV antibody responses. *Immunity*, 2013, 39(4): 758-69
- [22] Shulman Z, Gitlin AD, Targ S, et al. T follicular helper cell dynamics in germinal centers. *Science*, 2013, 341(6146): 673-7
- [23] Pissani F, Streeck H. Emerging concepts on T follicular helper cell dynamics in HIV infection. *Trends Immunol*, 2014, 35(6): 278-86
- [24] Xu Y, Weatherall C, Bailey M, et al. Simian immunodeficiency virus infects follicular helper CD4 T cells in lymphoid tissues during pathogenic infection of pigtail macaques. *J Virol*, 2013, 87(7): 3760-73
- [25] Hu TT, Song XF, Lei Y, et al. Expansion of circulating TFH cells and their associated molecules: involvement in the immune landscape in patients with chronic HBV infection. *Virol J*, 2014, 11: 54
- [26] Xibing G, Xiaojuan Y, Juanhua W, et al. Relationship between HBV genotypes B, C and follicular helper T cells in patients with chronic hepatitis B and its significance. *Hepat Mon*, 2013, 13(1): e6221
- [27] Boyden AW, Legge KL, Waldschmidt TJ. Pulmonary infection with influenza A virus induces site-specific germinal center and T follicular helper cell responses. *PLoS One*, 2012, 7(7): e40733
- [28] Yoo JK, Fish EN, Braciale TJ. LAPCs promote follicular helper T cell differentiation of Ag-primed CD4⁺ T cells during respiratory virus infection. *J Exp Med*, 2012, 209(10): 1853-67
- [29] Yoo JK, Braciale TJ. IL-21 promotes late activator APC-mediated T follicular helper cell differentiation in experimental pulmonary virus infection. *PLoS One*, 2014, 9(9): e105872
- [30] Wu J, Cui D, Yang X, et al. Increased frequency of circulating follicular helper T cells in children with hand, foot, and mouth disease caused by enterovirus 71 infection. *J Immunol Res*, 2014, 2014: 651872