

DOI: 10.13376/j.cblls/2016021

文章编号: 1004-0374(2016)02-0146-07



孙兵, 研究员, 博士生导师。1998年入选中科院“百人计划”, 2003年获国家杰出青年研究基金支持。实验室使用 cDNA array 基因筛选方法, 结合体内外功能实验, 寻找在自身免疫性疾病和过敏性疾病中调节 DC 细胞和 Th 细胞活化的关键性分子。围绕这些关键性分子开展以下方面的研究工作: (1) 树突状细胞 (DC) 在先天性免疫应答和活化 T 细胞中的作用机制研究; (2) 辅助性 T 细胞亚群的免疫调节功能和其在疾病发生、发展过程中的作用机制研究; (3) 炎症小体激活和调控机制的研究。

滤泡辅助性T细胞分化和功能的研究进展

何 岚, 孙 兵*

(中国科学院上海生命科学研究院生物化学与细胞生物学研究所, 上海 200031)

摘 要: 滤泡辅助性 T 细胞 (follicular helper CD4 T cell, T_{FH}) 是一类专门为 B 细胞提供帮助的 CD4 T 细胞。 T_{FH} 的分化依赖主要调控因子 Bcl6 的表达, 细胞表面高表达趋化因子受体 CXCR5, 并能分泌细胞因子 IL-21。 T_{FH} 对生发中心 (germinal center, GC) 的形成很重要, 并调控 B 细胞亲和力成熟、抗体同型转换、浆细胞分化和记忆 B 细胞产生等重要生物过程, 因此, 对机体产生抗体的保护性免疫十分重要。现主要总结了目前对 T_{FH} 分化过程的认识、 T_{FH} 中起重要调控作用的分子, 并讨论了 T_{FH} 在体液免疫中的功能。

关键词: 滤泡辅助性 T 细胞; CD4 T 细胞分化; 生发中心形成; 抗体产生

中图分类号: Q257; R392 **文献标志码:** A

The progress on follicular helper T cell differentiation and function

HE Lan, SUN Bing*

(Institute of Biochemistry and Cell Biology, Shanghai Institutes for Biological Sciences,
Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China)

Abstract: Follicular helper CD4 T cell is a CD4 T cell subset specialized to help B cells. T_{FH} differentiation depends on the expression of its master regulator Bcl6, the chemokine receptor CXCR5 and the production of IL-21. T_{FH} cells play essential roles in protective T-cell dependent antibody responses, regulating multiple biological processes including germinal center formation, B cell affinity maturation, class switch recombination, plasma cell differentiation and memory B cell differentiation. In this review, we summarize the current knowledge about T_{FH} differentiation process, key molecules in T_{FH} differentiation, and discuss roles of T_{FH} in humoral immunity.

Key words: follicular helper CD4 T cell; CD4 T cell differentiation; germinal center formation; antibody production

收稿日期: 2015-09-30

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2013CB53054); 国家自然科学基金国际合作项目(81361120409)

*通信作者: E-mail: bsun@sibs.ac.cn

滤泡辅助性 T 细胞 (follicular helper CD4 T cell, T_{FH}) 在 2000 年首先在人体中被发现, 几个实验室先后发现在扁桃体中有一群表型独特的、能高表达 CXCR5 的 CD4 T 细胞^[1-3]。扁桃体是一个和淋巴结相似的淋巴器官, 但由于其靠近咽喉和上呼吸道的独特位置, 会持续性地接触抗原, 因而产生大而活跃的生发中心 (germinal center, GC), 这使它成为人的 GC 研究中常用的淋巴器官。在组织学中 GC 是一种独特的结构, 在 B 细胞区 (也称为滤泡区) 内部形成。位于 B 细胞区的滤泡树突状细胞能分泌 CXCR5 的配体 CXCL13, 使表达 CXCR5 的 T_{FH} 细胞针对 CXCL13 向 B 细胞区迁移, 在 T-B 交界处与 B 细胞相互作用, 帮助 B 细胞分化成熟, 并实现自身的分化。在这个过程中, CD40-CD40L 等多种表面分子与配体之间的结合发挥着重要作用, 这些过程都需要细胞间的直接接触。

T_{FH} 在初期, 由于没有发现在 Th1/Th2/Th17 中都有的主要调控因子 (master regulator), 并且 T_{FH} 除了被观察到有高表达 CXCR5 这一特性外, 并未发现别的独特特征, 因此, 不能被确定是否作为一种独立的 CD4 T 细胞亚群^[4]。2009 年, 研究人员发现, Bcl6 可作为 T_{FH} 的主要调控因子, 调控 T_{FH} 分化的整个过程^[5-7]; 其次, T_{FH} 在辅助 B 细胞方面有极为重要的功能; 此外, T_{FH} 细胞能够特征性地分泌 IL-21, 在 GC 中发挥关键调控作用^[8]。这些研究结果提示, T_{FH} 是一种独立的 CD4 T 细胞亚群。

在现有的疫苗设计中, 几乎所有有效的疫苗都是基于 T 细胞依赖的抗原抗体反应产生效果的。同时, 在系统性红斑狼疮 (SLE) 和类风湿关节炎 (RA) 等自身免疫性疾病的研究中, T_{FH} 已被证明有关键的致病功能^[9]。鉴于 T_{FH} 在体液免疫和自身免疫性疾病中的关键作用, 关于 T_{FH} 这种新发现的 CD4 T 细胞亚群的分化和功能的研究显得尤为重要。

1 T_{FH} 分化过程: 一个多阶段多因子的 T_{FH} 分化模型

关于 T_{FH} 的分化过程目前仍有争论, 引起了不同的分化模型的提出。为了协调这些争论, Crotty^[4] 提出了一个包含多阶段多因子的 T_{FH} 分化模型, 目前受到普遍认可。

1.1 T_{FH} 分化起始

T_{FH} 分化的复杂性之一在于其分化过程需要两种抗原提呈细胞 (APC) 的参与。 T_{FH} 分化的早期诱导由 DC 起始, 分化晚期则主要由 B 细胞介导。在

缺乏 B 细胞的小鼠体内, CD4 T 细胞在病毒感染初期 (感染后第 2~4 天) 能表达正常水平的 Bcl6 和 CXCR5, 但在感染晚期 (感染后第 8 天) 时, T_{FH} 分化严重缺陷^[10]。这说明, 在 T_{FH} 早期分化阶段, 由 DC 起始 T_{FH} 的分化, 这一阶段可不需要 B 细胞, 但是 B 细胞对于 T_{FH} 的维持和分化完全起重要作用。

研究表明, 拥有更高亲和力 T 细胞抗原受体 (TCR) 的 CD4 T 细胞更容易分化成 T_{FH} 而不是非 T_{FH} 。这可能是由于高的 TCR 亲和力导致更持久的 T 细胞-DC 相互作用, 引起了更强的共刺激信号受体的刺激和 T 细胞与细胞因子间更充分的接触^[11]。

众多实验室的工作表明, IL-21 影响 T_{FH} 。由于 IL-21 对 GC B 细胞存活和增殖很重要, 并在大多数情况下, 同源的 B 细胞对 T_{FH} 的维持是必需的, 因此, 关于 IL-21 对 T_{FH} 的作用究竟是直接还是间接的争议不断^[8,12-15]。此外, 体内实验发现, IL-21^{-/-} 或 IL-21R^{-/-} 小鼠 T_{FH} 发育缺陷并不明显。针对这一现象, 最新的研究暗示, T_{FH} 在没有 IL-6 或 IL-21 的情况下分化正常, 但在这两个细胞因子同时缺失时, T_{FH} 分化严重缺陷。由于 IL-6 与 IL-21 都通过 STAT3 传递信号, 因此, 这两个细胞因子在 T_{FH} 分化的调控方面可能起着冗余的作用, IL-6 的存在能够补偿 IL-21 的缺失^[16]。

1.2 命运决定阶段: T-B 接触期

T_{FH} 的定位对 T_{FH} 分化和功能有重要作用^[17]。T 细胞通过大量表达 CXCR5 使 T 细胞能够迁移到 T-B 交界处与 B 细胞发生相互作用。CXCR5 是经典的 T_{FH} 特征性标志。CCR7 的下调对于 T_{FH} 迁移到 T-B 交界也十分重要。虽然 CXCR5 的表达能充分地影响 T-B 交界的定位, 但它对 T_{FH} 定位到滤泡区不充分。高水平的 CCR7 的表达能够阻碍 CD4 T 细胞迁移到滤泡区。另外, PSGL1 能够结合 CCR7 配体 CCL19 和 CCL21, 因而可能影响 T 细胞迁移。在没有 CXCR5 表达的情况下, CD4 T 细胞不能迁移到 T-B 交界处与同源 B 细胞接触, 更倾向于上调 Blimp1, 分化成其他 CD4 T 细胞亚群 (T_{FH} 除外)^[18]。

T_{FH} 迁移到 T-B 交界使 T_{FH} 能够接触 B 细胞, 并依赖 B 细胞完成分化。激活的 B 细胞表达 ICOS (inducible T cell co-stimulator ligand), 能与 T_{FH} 表面的 ICOS (inducible T cell co-stimulator) 结合启动下游信号通路。在 ICOS 信号被阻断后, 小鼠体内不能形成 T_{FH} ^[8]。在 ICOS 缺陷的人中同样不能检测到 T_{FH} 的产生。在 CD4 T 细胞中, ICOS 表达的诱导和维持可通过 CD28 依赖或 CD28 非依赖的两条途

径。ICOS 介导的 PI3K 信号对 T_{FH} 分化是必需的, 而且和 IL-21 和 IL-4 信号通路相关。PI3K 的亚基 P110 是 ICOS 下游信号和 IL-21 产生特导性所需要的^[19]。

1.3 完全极化: GC 阶段

T_{FH} 可被分为 pre- T_{FH} 和 T_{FH} , 或者 T_{FH} 和 GC T_{FH} 。 T_{FH} 是 CXCR5⁺Bcl6⁺ 的 CD4 T 细胞, 而且能高表达 ICOS 和 PD1 (programmed cell death 1), 而 GC T_{FH} 是进一步分化的 T_{FH} , 表达最高水平的 Bcl6 和 CXCR5。在实际检测中, GC T_{FH} 通常被认为是协调表达最高水平 CXCR5 和 PD1 的这群细胞, 而其他标志, 如 CXCR5 和 GL7 (鼠中), 或者 CXCR5 和最高水平的 ICOS (人中) 也可以作为检测指标^[4]。通过这些标志可发现 GC T_{FH} 是 GC 内部的 T_{FH} , 然而, 其他的 T_{FH} 主要定位在滤泡中或者靠近滤泡。 T_{FH} 和 GC T_{FH} 是两个不同的分化阶段, 它们有相似的基因表达谱, 但 GC T_{FH} 更加极化。与 naïve CD4 T 细胞或非 T_{FH} 相比, T_{FH} 细胞表达较高的 CXCR5、PD1、ICOS、BTLA、CD200、SAP (SH2 domain containing 1A, Sh2dla), 而 GC T_{FH} 中这些分子的表达水平都比 T_{FH} 高。在体内, 不能分化成为 GC T_{FH} 的 T_{FH} (如 *sh2dla*^{-/-} 小鼠) 只能对 B 细胞提供早期的辅助, 如帮助一些滤泡外反应, 而 GC T_{FH} 对 GC 发育和长期体液免疫是绝对重要的。

SAP 对 GC T_{FH} 发育很关键^[20]。SAP 缺陷是人类基因缺陷病 X 染色体连锁淋巴组织增生 (XLP) 的原因, 该病患者抗体反应极弱, 并且无 GC 形成。SAP 在 T-B 细胞黏附中起重要作用。SAP 对于 CD4 T 细胞持续性黏附到 DC 不是必需的, 但是对其黏附到 B 细胞是必需的。黏附信号通过 SLAM (signaling lymphocytic activation molecule)-SAP 信号通路传递。有 5 大 SLAM 家族受体能够结合 SAP, 其中 4 个表达在 CD4 T 细胞上。考虑到单个的 SLAM 受体缺陷表型与 SAP 缺陷表型并不一致, 所以, SLAM 家族成员可能有冗余作用。在某些情况下, ICOS 可能成为主要的 GC T_{FH} 分化信号, 这个过程也通过依赖 SAP 的 T-B 细胞相互作用实现。持续的 ICOS 表达对 GC T_{FH} 是必需的^[21]。另外, 由于黏附并不是 SAP 信号调控的唯一过程, 因此, 来自 SLAM 受体的其他信号, 如 CD84 也可能直接提供能够驱动 T_{FH} 向 GC T_{FH} 分化的信号。

2 T_{FH} 中的关键调控分子

由于 T_{FH} 需要选择性定位, 并与 B 细胞持续

相互作用, 因此, T_{FH} 表达种类极多的表面蛋白。 T_{FH} 还表达特异性的细胞因子和可溶性分子, 如 IL-21 和 IL-4, 以及在人的 T_{FH} 中令人意外的出现了 CXCL13 的表达^[22]。 T_{FH} 中的关键分子将在下面讨论。需要注意的是, 在帮助 B 细胞的不同阶段, 这些分子发挥着重叠的功能, 因此, 需要结合多个合作的信号通路来理解 T_{FH} 的功能。

2.1 表面蛋白

2.1.1 CD40

CD40 对 B 细胞激活和分化过程中的多个阶段都很重要。在 B 细胞中, CD40 的重要性仅次于 BCR。CD40L 是 CD40 的配体, 它在激活的 CD4 T 细胞中高表达。CD40L 表达很短暂, 而且难以定量, 因为与 CD40 的结合会导致 CD40L 立即内化。没有 CD40L 或 CD40, GC 发育和浆细胞发育均受到严重阻碍^[23]。CD40 对于 B 细胞激活、增殖和存活都很重要。尤其有意思的是, CD40L-CD40 的结合对于 GC B 细胞的维持至关重要。GC B 细胞容易凋亡, 需要持续的存活信号, 在体外提供 CD40L 能阻止 GC B 细胞凋亡, 机制上可能是通过 Bcl6。而且, CD40L 能抑制浆细胞分化。GC B 细胞增殖依赖持续的 CD40L 和 IL-21 信号, 或 CD40L 和 IL-4 信号刺激。

2.1.2 ICOS

在前面已提到, ICOS 对 GC 形成重要。ICOS-ICOSL 结合后能够提供信号给 CD4 T 细胞, 这对 T_{FH} 的起始和维持是必需的。B 细胞中 ICOSL 的表达对 GC 形成是必需的^[8]。然而, ICOSL 的结合是否提供任何从 T_{FH} 到 GC B 细胞的信号还不清楚。ICOSL 有一个限制性的细胞质尾巴, 上面有单个酪氨酸位点, 但并没有发现任何能传递信号的结构域, 因此, 目前没有证据显示 ICOSL 能在 B 细胞中传递信号。

2.1.3 PD-1

PD-1 是一个强的抑制性受体, 对 T 细胞耐受重要, 与 CD8⁺ T 细胞在病毒干扰时的衰竭有关^[24]。PD-1 在 GC T_{FH} 中高表达, 而 GC B 细胞中表达 PD-L1 和增加的 PD-L2。PD-1 的表达被 TCR 信号诱导, 在大多数激活的 CD4 T 细胞和 CD8 T 细胞中, PD-1 都是高表达的^[24-25]。PD-1 的高表达部分是由于同源 T-B 细胞不断的相互作用, 导致持久的 TCR 刺激。GC T_{FH} 中 PD-1 的强烈高表达也可能有除了 TCR 激活的其他 T_{FH} 特异性调控机制。

PD-1 可能提供了一个抑制信号给 T_{FH} , 阻碍过

多的 CD4 T 细胞增殖。PD-1^{-/-} 和 PD-L1^{-/-}PD-L2^{-/-} 小鼠有更多的 T_{FH}^[26]。然而, 意外的是, 它们的 B 细胞反应不但没有增强, 反而减弱。虽然 GC 能够正常形成, 但 GC 的维持减弱, 因为 B 细胞发生了更多的凋亡。虽然有正常的亲和力, 长期存活的浆细胞数量也减少了。这些结果可能是由于 PD-1^{-/-} 的 T_{FH} 的功能缺陷, 或者是通过 PD-L1 传递给 GC B 细胞的信号消失。PD-1 也可能通过扰乱 TCR 诱导的终止信号影响了 T-B 结合的时间长短。

2.1.4 趋化因子受体

趋化因子受体有助于 T_{FH} 的正确定位, 而定位是 T_{FH} 的重要属性。T_{FH} 为了正确的定位, 必须维持 CXCR5 的表达且 CCR7 不表达, 这样就避免了 T_{FH} 重新定位到 T 区。GC T_{FH} 在 GC 中的功能发挥可能需要其精确定位在 GC 中。

T_{FH} 需要避免炎性趋化因子受体的表达, 因为炎性趋化因子受体会使 T_{FH} 远离 B 细胞和 GC, 而被招募到 T 区、红髓或淋巴结外的地方。T_{FH} 仅有少量的 CCR5、CCR2、CX3CR1 和相关炎性细胞因子受体的表达^[6,25]。

2.2 转录因子

2.2.1 Bcl6和Bcl6结合蛋白

前面已经提到, Bcl6 是 T_{FH} 的主要调控因子。Bcl6 是一个协同抑制分子, 需要和 Bcl6 家族成员, 或有 BTB 结构域的转录因子, 甚至在序列上无关的蛋白通过蛋白质间相互作用发挥功能。因此, 一些被 Bcl6 调控的基因会受特定的 Bcl6 共阻遏物 (corepressor) 的表达增加或减少的调节。已知的能与 Bcl6 相互作用的因子包括 CtBP、BAZF、MTA3、SMRT、MIZ1 (*Zbtb17*)、ETO (*Runx1t1*)、PLZF、AP-1、BCoR 和 NCoR。另外, Bcl6 能够通过和别的转录因子竞争同一个基因的调控位点来调节基因的表达, 如 Bcl6 结合的 DNA 结构域和 STAT 与 IRF4 相接近, 能与它们相互竞争^[27-29]。

2.2.2 E蛋白

E 蛋白 Ascl2 是一个新发现的调控 T_{FH} 分化的分子。在体外分化条件下, 小鼠 CD4 T 细胞中 Ascl2 的过表达能够诱导 CXCR5 表达, 暗示 Ascl2 起着在 T_{FH} 分化早期诱导 CXCR5 的功能^[30]。然而, Ascl2 可能不是唯一的 CXCR5 调控者, 表达在 CD4 T 细胞中的其他 E 蛋白可能通过结合到 CXCR5 的增强子区域促进其表达, 从而与 Ascl2 存在冗余功能^[31]。诱导 Ascl2 或其他 E 蛋白表达的信号还不清楚。此外, E 蛋白的功能很大程度上被 Id2 和 Id3 调控。

2.2.3 叉头蛋白(forkhead box protein)转录因子

Foxp1 和 Foxo1 属于叉头蛋白转录因子, 在静息状态的幼稚型 CD4 T 细胞中表达, 对幼稚型 CD4 T 细胞的归巢和静息状态维持很重要。最近的研究发现, Foxp1 和 Foxo1 在 T_{FH} 分化中起着重要的负性调控作用, 它们可能作用于 Bcl6 的上游, 抑制了 Bcl6 和 T_{FH} 相关的迁移基因的表达^[32-33]。此外, 研究发现 E3 泛素化酶 Itch 能够和 Foxo1 相互作用, 促进 Foxo1 的泛素化和降解, 从而在 T_{FH} 分化过程中发挥关键的阳性调控作用^[33]。

2.2.4 STAT家族

STAT 家族分子是一类在 CD4 T 细胞中起重要作用的分子, 它们与 T_{FH} 分化过程也密切相关^[34]。STAT3、STAT1、STAT4 和 STAT5 在 T_{FH} 中均起作用, 其中以 STAT3 最为重要^[35-36]。STAT3 是 IL-21 和 IL-6 信号在 T 细胞和 B 细胞中的主要传导者, 且能调控 Bcl6 的表达。STAT3 能够结合 *bcl6* 基因位点, 阳性调控 Bcl6, 但 STAT3 还是 B 细胞和 T 细胞中 Blimp1 的强诱导者^[37-39]。考虑到 Bcl6 和 Blimp1 是直接拮抗的, STAT3 诱导这两者暗示, Bcl6 和 Blimp1 最终何者会表达强烈依赖其他转录因子。在小鼠中, STAT3 还能调控 IL-21 的表达^[40]; 而在人中, IL-21 表达由 STAT4 和 STAT3 共同调控^[41]。STAT1 可以正向或负向调控 Bcl6 表达和 T_{FH} 分化, 而 STAT5 可强烈地抑制 T_{FH} 分化^[41-42]。STAT3 和 STAT5 对于 T_{FH} 分化的作用相反, 这和它们在 Th17 中的表现相似^[43]。综上可知, STAT 家族在 T_{FH} 分化过程中起着复杂的调控作用。

2.3 细胞因子

2.3.1 IL-21

IL-21 在 T_{FH} 和 GC T_{FH} 中高表达。IL-21 是最重要的驱动浆细胞分化的细胞因子, 这依赖于 STAT3, 而且和诱导浆细胞的主要调控因子 Blimp1 有关。Blimp1 是 STAT3 的目标基因, 被 IL-21 诱导。IL-21 也对 GC B 细胞增殖很重要。GC B 细胞的 Bcl6 表达在没有 IL-21 的情况下减少。

在一些情况下, IL-21 对早期的 GC 发育不是必需的, 这暗示在早期 GC B 细胞分化的过程中, IL-21 和其他 T_{FH} 细胞因子有大量的冗余作用。这些细胞因子有可能是 IL-6 和 IL-4, 也可能是别的细胞因子。IL-6 也通过 STAT3 和 STAT5 传递信号。IL-21R^{-/-} IL-4^{-/-} KO 小鼠的 GC 缺陷比 IL-21R^{-/-} 小鼠严重得多, 暗示它们有重合的功能。IL-21 促进 GC B 细胞增殖的功能和 IL-4 促进存活的功能可能有交叉作用^[44]。

2.3.2 IL-4

CD4 T 细胞亚群、IL-4 的产生和对 B 细胞的帮助的实现, 这三者之间的关系一直是一个谜。在最初的时候, IL-4 被认为是促进 B 细胞存活和分化的因子。接下来的研究发现, IL-4 能作为 Th2 的标志, 使其功能和帮助 B 细胞联系起来。然而, 在阻碍了 Th2 分化后, GC B 细胞数量和血清 IgG 反应基本没影响。现在发现在体内帮助 B 细胞的细胞亚群是 T_{FH} , 而不是 Th2。然而, T_{FH} 和 GC T_{FH} 常被报道能产生 IL-4。最近发现 GC T_{FH} 能特异性地产生 IL-4, 而且不依赖 Th2 分化而是依赖 SAP 和 SLAM^[25]。 T_{FH} 中 IL-4 的产生对实现最佳的 B 细胞帮助是很重要的。

IL-4 能够帮助 B 细胞抗凋亡, 这对 GC 十分重要。GC B 细胞表达低量的 Bcl2 和高量的 Fas。IL-4 通过诱导 Bcl2 家族成员 Bcl-xL 阻碍 B 细胞凋亡。IL-4 还能强烈地增强葡萄糖吸收和代谢, 促进细胞存活和增殖。

2.3.3 IL-2

IL-2 是一个有多重功能的细胞因子, 对 CD4 T 细胞的增殖、存活、分化和死亡都起重要作用^[45]。IL-2 对 T_{FH} 的分化起强烈的负性调控作用, 且在分化早期就发挥作用。在小鼠流感感染模型中, 外源 IL-2 的加入抑制 T_{FH} 分化, 并阻碍了 GC 的形成和流感特异性抗体反应^[46]。IL-2 可能是通过 STAT5 发挥作用, 正性调控 Blimp1 的表达, 从而实现对 T_{FH} 分化的负性调节^[42,47]。

3 T_{FH} 的功能

简单来说, T_{FH} 的功能是为 B 细胞提供帮助。通过自分泌的细胞因子以及和 B 细胞相互作用, T_{FH} 不仅帮助 B 细胞, 还完善了自身的分化。此外, T_{FH} 还能提供信号给滤泡树突状细胞。 T_{FH} 对于 GC 的形成和维持、记忆 B 细胞和浆细胞产生是必需的。CD4 T 细胞的帮助是限制 GC 发育和 B 细胞记忆产生的主要因素, 对这些过程的控制取决于 T_{FH} 对 B 细胞命运方方面面的调控^[41]。

为了起始 GC 形成, T_{FH} 必须先诱导 GC B 细胞的分化, 通过刺激 Bcl6 在激活的 B 细胞中的表达, 提供了细胞存活和增殖的信号。Bcl6 在 B 细胞中的诱导是一个复杂的过程, 信号调控现在还不了解。

萌芽的 GC 一旦形成, GC T_{FH} 向 GC B 细胞提供细胞存活和增殖的信号, 刺激 GC B 细胞进行超

频突变, 选择成功的 GC B 细胞进入下一轮发育。这是一个诱导增殖、选择细胞的反复过程, GC 中的 T_{FH} 一直在经历这个过程, 会产生几十代的 GC B 细胞。 T_{FH} 可通过很多途径提供信号给 GC B 细胞, 包括 CD40L、IL-4、PD-1、BAFF, 这些途径和 Fas-FasL 信号竞争拮抗。GC B 细胞组成性地表达大量的 Fas。在没有促存活信号的情况下, GC T_{FH} 会通过 Fas 杀掉 GC B 细胞。 T_{FH} 通过 CD40L 和 IL-21 提供增殖信号给 GC B 细胞。超频突变完全依赖 GC B 细胞表达的 AID。AID 经常和 Bcl6 共表达, 但是 AID 在 GC B 细胞中的调控机制还不清楚。与这个过程重合的是, GC B 细胞的抗体同型转换过程也需要 AID、 T_{FH} 提供的同型转换因子和其他分子^[48]。

GC 反应的结果是产生记忆 B 细胞和高亲和力的浆细胞 (包括长期存活和短期存活的浆细胞)。GC T_{FH} 对所有的这些过程都有调节作用。因此, T_{FH} 必须提供不同的信号来维持 GC B 细胞和超频突变, 杀掉不合适的 B 细胞, 在某些时候赋予 GC B 细胞高亲和力来阻止使其成为 GC B 细胞, 反而成为浆细胞或记忆 B 细胞, 离开 GC。浆细胞分化目前已被研究得比较清楚。浆细胞分化由细胞因子控制, 如 IL-21。其他细胞因子也能促进浆细胞分化, 包括 IL-10、IL-6、IL-4。记忆 B 细胞分化的研究结果尚不明确。没有已知的信号直接驱动 B 细胞到记忆 B 细胞的分化。在浆细胞分化信号缺失的情况下, 记忆 B 细胞分化可能是一个默认的程序。另一方面, 浆细胞与记忆 B 细胞分化可能是一个双向的命运, 但是诱导记忆 B 细胞分化的信号还没被发现^[4]。

考虑到 GC 中迅速产生的高亲和力抗体是机体抵抗迅速进化的病原体 (尤其是高突变和高复制力的 RNA 病毒) 的唯一途径, 而亲和成熟过程依赖 B 细胞的迅速增殖和大量死亡, 所以, T_{FH} 的大部分功能都集中在促进 B 细胞存活和增殖方面。同时, B 细胞大量的增殖和突变可能会导致自身免疫病或淋巴瘤, 因此, T_{FH} 和 GC B 细胞的发育都必须受到紧密调控, 有着多层的调控和反调控机制。

4 待解决问题和未来展望

随着近年来的研究, 人们对 T_{FH} 的认识越来越多, 目前这群细胞已逐渐被认可为一群独立的 CD4 T 细胞亚群。它们有着明确的功能, 即对 B 细胞提供辅助, 并且有 Bcl6 作为其主要调控因子。然而, T_{FH} 的研究作为一个新发现的并受到广泛关注的

CD4 T 细胞亚群, 关于其分化和功能的研究仍有很多待解决的问题。例如, T_{FH} 分化所需的最少的信号是哪些; 来自细胞因子和细胞表面受体的信号对于分化是否都是关键性的; 在用疫苗进行免疫后, 如何进一步增强 T_{FH} 分化; 在自身免疫性疾病中, 如何有效地拮抗 T_{FH} 的分化; T_{FH} 分化与其他 CD4 T 细胞亚群的关系究竟是完全独立还是有所重合; 诱导 Bcl6 表达的机制是什么; 除了 Bcl6, 还有哪些转录因子对 T_{FH} 重要; Bcl6 调控的基因具体有哪些; Bcl6 直接调控的 T_{FH} 功能有哪些; T_{FH} 是否还能细分为几种亚群, 这些亚群有什么功能。鉴于 T_{FH} 在自身免疫性疾病和疫苗开发中的重要性, 以上这些问题的解决将有重大的实际意义。

[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: 1545-52
- [2] Schaerli P, Willimann K, Lang EB, et al. CXC chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function. *J Exp Med*, 2000, 192: 1553-62
- [3] Kim CH, Rott LS, Clark-Lewis I, et al. Subspecialization of CXCR5⁺ T cells: B helper activity is focused in a germinal center-localized subset of CXCR5⁺ T cells. *J Exp Med*, 2001, 193: 1373-81
- [4] Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH). *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 621-63
- [5] Nurieva RI, Chung Y, Martinez GJ, et al. Bcl6 mediates the development of T follicular helper cells. *Science*, 2009, 325: 1001-5
- [6] Johnston RJ, Poholek AC, DiToro D, et al. Bcl6 and Blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper cell differentiation. *Science*, 2009, 325: 1006-10
- [7] Yu D, Rao S, Tsai LM, et al. The transcriptional repressor Bcl-6 directs T follicular helper cell lineage commitment. *Immunity*, 2009, 31: 457-68
- [8] Nurieva RI, Chung Y, Hwang D, et al. Generation of T follicular helper cells is mediated by interleukin-21 but independent of T helper 1, 2, or 17 cell lineages. *Immunity*, 2008, 29: 138-49
- [9] 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: 412-26
- [10] Choi YS, Kageyama R, Eto D, et al. ICOS receptor instructs T follicular helper cell versus effector cell differentiation via induction of the transcriptional repressor Bcl6. *Immunity*, 2011, 34: 932-46
- [11] Tubo NJ, Pagan AJ, Taylor JJ, et al. Single naive CD4⁺ T cells from a diverse repertoire produce different effector cell types during infection. *Cell*, 2013, 153: 785-96
- [12] Vogelzang A, McGuire HM, Yu D, et al. A fundamental role for interleukin-21 in the generation of T follicular helper cells. *Immunity*, 2008, 29: 127-37
- [13] Yi JS, Du M, Zajac J. A vital role for interleukin-21 in the control of a chronic viral infection. *Science*, 2009, 324: 1572-6
- [14] Linterman MA, Beaton L, Yu D, et al. IL-21 acts directly on B cells to regulate Bcl-6 expression and germinal center responses. *J Exp Med*, 2010, 207: 353-63
- [15] Zotos D, Coquet JM, Zhang Y, et al. IL-21 regulates germinal center B cell differentiation and proliferation through a B cell-intrinsic mechanism. *J Exp Med*, 2010, 207: 365-78
- [16] Eto D, Lao C, DiToro D, et al. IL-21 and IL-6 are critical for different aspects of B cell immunity and redundantly induce optimal follicular helper CD4 T cell (Tfh) differentiation. *PLoS One*, 2011, 6: e17739
- [17] Fazilleau N, Mark L, McHeyzer-Williams LJ, et al. Follicular helper T cells: lineage and location. *Immunity*, 2009, 30: 324-35
- [18] Crotty S, Johnston RJ, Schoenberger SP. Effectors and memories: Bcl-6 and Blimp-1 in T and B lymphocyte differentiation. *Nat Immunol*, 2010, 11: 114-20
- [19] Rolf J, Bell SE, Kovcsdi D, et al. Phosphoinositide 3-kinase activity in T cells regulates the magnitude of the germinal center reaction. *J Immunol*, 2010, 185: 4042-52
- [20] Qi H, Cannons JL, Klauschen F, et al. SAP-controlled T-B cell interactions underlie germinal centre formation. *Nature*, 2008, 455: 764-9
- [21] Akiba H, Takeda K, Kojima Y, et al. The role of ICOS in the CXCR5⁺ follicular B helper T cell maintenance *in vivo*. *J Immunol*, 2005, 175: 2340-8
- [22] Kim CH, Lim HW, Kim JR, et al. Unique gene expression program of human germinal center T helper cells. *Blood*, 2004, 104: 1952-60
- [23] Foy TM, Laman JD, Ledbetter JA, et al. gp39-CD40 interactions are essential for germinal center formation and the development of B cell memory. *J Exp Med*, 1994, 180: 157-63
- [24] Barber DL, Wherry EJ, Masopust D, et al. Restoring function in exhausted CD8 T cells during chronic viral infection. *Nature*, 2006, 439: 682-7
- [25] Yusuf I, Monticelli L, Johnston RJ, et al. Germinal center T follicular helper cell IL-4 production is dependent on signaling lymphocytic activation molecule receptor (CD150). *J Immunol*, 2010, 185: 190-202
- [26] Good-Jacobson KL, Szumilas CG, Chen L, et al. PD-1 regulates germinal center B cell survival and the formation and affinity of long-lived plasma cells. *Nat Immunol*, 2010, 11: 535-42
- [27] Kitano M, Moriyama S, Ando Y, et al. Bcl6 protein expression shapes pre-germinal center B cell dynamics and follicular helper T cell heterogeneity. *Immunity*, 2011, 34: 961-72
- [28] Liu X, Yan X, Zhong B, et al. Bcl6 expression specifies the T follicular helper cell program *in vivo*. *J Exp Med*,

- 2012, 209: 1841-52
- [29] Choi YS, Yang JA, Crotty S. Dynamic regulation of Bcl6 in follicular helper CD4 T (Tfh) cells. *Curr Opin Immunol*, 2013, 25: 366-72
- [30] Liu X, Chen X, Zhong B, et al. Transcription factor achaete-scute homologue 2 initiates follicular T-helper-cell development. *Nature*, 2014, 507: 513-8
- [31] Miyazaki M, Rivera RR, Miyazaki K, et al. The opposing roles of the transcription factor E2A and its antagonist Id3 that orchestrate and enforce the naive fate of T cells. *Nat Immunol*, 2011, 12: 992-1001
- [32] Wang H, Geng J, Wen X, et al. The transcription factor Foxp1 is a critical negative regulator of the differentiation of follicular helper T cells. *Nat Immunol*, 2014, 15: 667-75
- [33] Xiao N, Eto D, Elly C, et al. The E3 ubiquitin ligase Itch is required for the differentiation of follicular helper T cells. *Nat Immunol*, 2014, 15: 657-66
- [34] Vahedi G, C Poholek A, Hand TW, et al. Helper T-cell identity and evolution of differential transcriptomes and epigenomes. *Immunol Rev*, 2013, 252: 24-40
- [35] Ray JP, Marshall HD, Laidlaw BJ, et al. Transcription factor STAT3 and type I interferons are corepressive insulators for differentiation of follicular helper and T helper 1 cells. *Immunity*, 2014, 40: 367-77
- [36] Nakayamada S, Poholek AC, Lu KT, et al. Type I IFN induces binding of STAT1 to Bcl6: divergent roles of STAT family transcription factors in the T follicular helper cell genetic program. *J Immunol*, 2014, 192: 2156-66
- [37] Ozaki K, Spolski R, Ettinger R, et al. Regulation of B cell differentiation and plasma cell generation by IL-21, a novel inducer of Blimp-1 and Bcl-6. *J Immunol*, 2004, 173: 5361-71
- [38] Kwon H, Thierry-Mieg D, Thierry-Mieg J, et al. Analysis of interleukin-21-induced Prdm1 gene regulation reveals functional cooperation of STAT3 and IRF4 transcription factors. *Immunity*, 2009, 31: 941-52
- [39] Durant L, Watford WT, Ramos HL, et al. Diverse targets of the transcription factor STAT3 contribute to T cell pathogenicity and homeostasis. *Immunity*, 2010, 32: 605-15
- [40] Suto A, Kashiwakuma D, Kagami S, et al. Development and characterization of IL-21-producing CD4⁺ T cells. *J Exp Med*, 2008, 205: 1369-79
- [41] Crotty S. T follicular helper cell differentiation, function, and roles in disease. *Immunity*, 2014, 41: 529-42
- [42] Johnston RJ, Choi YS, Diamond JA, et al. STAT5 is a potent negative regulator of TFH cell differentiation. *J Exp Med*, 2012, 209: 243-50
- [43] Yang XP, Ghoreschi K, Steward-Tharp SM, et al. Opposing regulation of the locus encoding IL-17 through direct, reciprocal actions of STAT3 and STAT5. *Nat Immunol*, 2011, 12: 247-54
- [44] Luthje K, Kallies A, Shimohakamada Y, et al. The development and fate of follicular helper T cells defined by an IL-21 reporter mouse. *Nat Immunol*, 2012, 13: 491-8
- [45] Liao W, Lin JX, Leonard WJ. IL-2 family cytokines: new insights into the complex roles of IL-2 as a broad regulator of T helper cell differentiation. *Curr Opin Immunol*, 2011, 23: 598-604
- [46] Ballesteros-Tato A, Leon B, Graf BA, et al. Interleukin-2 inhibits germinal center formation by limiting T follicular helper cell differentiation. *Immunity*, 2012, 36: 847-56
- [47] Nurieva RI, Podd A, Chen Y, et al. STAT5 negatively regulates T follicular helper (Tfh) cell generation and function. *J Biol Chem*, 2012, 287: 11234-9
- [48] Klein U, Dalla-Favera R. Germinal centres: role in B-cell physiology and malignancy. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8: 22-33