

血红素加氧酶-1、树突状细胞和调节性 T 细胞 在慢性气道炎症中的作用及相互关系

蔚京京 须丽清 钟文伟 邵洁 夏振炜*

(上海交通大学医学院附属瑞金医院儿科, 上海 200025)

摘要 慢性气道炎症是多种肺部疾病的共同病理生理过程, 是由多种炎症细胞、炎症介质及细胞因子相互作用所致的气道病变。血红素加氧酶(HO)-1、树突状细胞(DC)和调节性 T 细胞(Treg)参与了气道炎症并发挥不同的作用, 表现在HO-1具有抗炎抗氧化及保护细胞的作用; DC除可导致或持续气道炎症反应外, 也具有负向调控作用, 可诱导免疫耐受而抑制炎症的发展; 而Treg可发挥免疫调抑功能, 以此维持免疫稳态及抑制气道炎症。HO-1、DC和Treg相互作用, 影响着气道炎症的发生发展。现对三者在此气道炎症中的作用及相互关系进行综述。

关键词 血红素加氧酶-1; 树突状细胞; 调节性 T 细胞; 气道炎症

慢性气道炎症是人体气道对各种致炎因素所致损伤产生的以防御为主的反应。造成气道炎症的因素众多, 其中最重要的是病原体感染、过敏原激发及环境污染等理化因素。不同致炎因素刺激不同的炎症细胞, 产生相同或不同的炎症介质和细胞因子, 导致相应的炎症反应。支气管哮喘、慢性阻塞性肺病、肺囊性纤维化等气道及肺部疾病尽管病因不同, 但均是由多种炎症细胞、炎症介质及细胞因子参与并相互作用引起的以气道组织损伤、气道重构、黏液腺增生及黏液分泌显著增加的慢性气道炎症性疾病, 气道炎症及氧化应激是上述疾病共同的病理生理过程。近年研究发现, 血红素加氧酶(heme oxygenase, HO)-1除降解血红素为胆绿素、亚铁离子和CO, 为血红素代谢的限速酶, 其作为应激蛋白尚具有细胞保护效应, 能抗炎、抗氧化应激、抗细胞凋亡和抗平滑肌增生; 此外HO-1还可影响树突状细胞(dendritic cell, DC)和调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)等, 起到间接免疫调节的作用。DC可诱导初始型 T 细胞对吸入性抗原的初级免疫应答, 为始动气道变态反应之必需, 还可分泌趋化因子导致持续气道炎症, 在气道炎症的发病机制中具有重要的意义, 其调节性 DC 亚群可诱导免疫耐受。Treg具有免疫调抑和控制气道炎症的作用。因此阐明HO-1、DC和Treg在气道炎症中的作用及其相互关系, 对了解气道炎症的发生机制具有重要的意义。本文就此综述了三者在气道炎症中

的作用及相互关系。

1 HO-1的生物学功能及其在气道炎症中的作用机制

目前已经发现HO有3种同工酶, 即HO-1、HO-2和HO-3^[1]。HO-1为诱导型, HO-2和HO-3为组成型, 目前的研究多聚焦于HO-1。HO-1属于应激蛋白或热休克蛋白, 除可被底物血红素诱导外, 其在病理状态下还可受多种与氧化应激和炎症相关的刺激物如氧化剂、炎症细胞因子、重金属、紫外线、热休克和NO诱导, 药物激动剂亦可诱导HO-1的表达^[2-5]。近年的研究提示HO-1具有抗氧化损伤、抗炎症反应和抗凋亡及保护细胞的效应, 在相关病症如气道炎症反应中具有保护细胞作用^[6]。因此, HO-1的生物学活性及其在临床众多疾病中的保护作用已受到关注, 成为近年来研究的热点。

在支气管哮喘、慢性阻塞性肺病和肺囊性纤维化等慢性气道炎症性疾病的发病过程中, 炎症介质水平升高, 同时伴随有活性氧(ROS)和NO产生增加, 这些均可诱导HO-1表达^[7-10]。Wagener等^[11]发现HO-1表达上调可使血管壁黏附分子的功能和表达均下降, 从而减少炎症细胞从血管内趋化移行至炎

收稿日期: 2006-05-29 接受日期: 2006-08-11

国家自然科学基金(No.30170988, No.30570798)、上海市科委(No.044119662)和上海市教委(No.03BZ04)资助项目

* 通讯作者。Tel: 021-64333414, E-mail: xzw63@hotmail.com

症部位,减少炎症部位白细胞募集。上调HO-1亦使气道处于较低的氧化应激状态,降低气道内中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和淋巴细胞的数目。用高表达人HO-1 cDNA的转基因小鼠研究HO-1在低氧和脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)激发的两类气道炎症中的作用,发现暴露于低氧环境2~5天后所致的气道炎症,野生型小鼠特异性炎症细胞因子和趋化因子的mRNA和蛋白质水平均显著升高,而在转基因小鼠则显著抑制,提示这种抑制效应是HO-1过表达所致。LPS处理的野生型和转基因小鼠的细胞因子mRNA水平均显著升高,但在转基因小鼠中,发现细胞因子蛋白质水平显著低于野生型。同样表明HO-1有抑制气道中炎症细胞因子的作用^[12]。Almolki等^[8]进一步证实了HO-1的抗炎作用,并发现其底物血红素的代谢产物胆绿素/胆红素、铁/铁蛋白、CO在气道炎症中也具有抗氧化、抗炎及保护细胞的效应。胆红素是体内一种强有效的抗氧化剂,能抑制ROS的产生,最终阻断由ROS上调前炎症基因后激活的凋亡信号通路;亦能有效清除过氧化物激活剂,从而抑制脂质过氧化反应;此外可减少气道炎症中炎症细胞的募集,抑制细胞因子和趋化因子的产生,表明胆红素通过清除ROS的抗氧化机制和减少炎症细胞的募集发挥其保护作用^[8]。CO可作为信号分子激活鸟苷酸环化酶,通过增加细胞内cGMP水平来促进血管扩张从而调节局部血流,维持炎症反应部位的血流量并抑制血小板聚集,阻止血栓形成;舒张气道平滑肌减少肺吸气阻力;通过激活第二信使系统激活机体固有的抗氧化剂如蛋白激酶、离子通道、磷酸二酯酶等^[8,13-15]。游离铁可加剧ROS的细胞毒性作用,而铁蛋白可保护细胞,避免活化中性粒细胞和过氧化氢介导的细胞毒性作用。HO-1可能通过增加细胞内铁的释放而调节细胞铁浓度,从而发挥细胞保护效应^[16]。

2 DC的生物学功能及其在气道炎症中的作用机制

DC是来自骨髓的一群异质细胞,在人类肺组织中主要存在3种不同的DC亚群,目前认为有MDC1 [myeloid DC type 1, CD11c⁺, MHC-II^{high}, CD11b⁺, BDCA (blood dendritic cell antigen) 1⁺/HLA-DR⁺], MDC2 (myeloid DC type 2, CD11c⁺, MHC-II^{high}, CD11b⁺, BDCA3⁺/HLA-DR⁺), pDC (plasmacytoid DC, CD11c⁺, MHC-II^{low}, B220⁺, Gr-1⁺, CD19⁻, BDCA2⁺/

CD123⁺)。它们不但具有独特的细胞表型和分化能力,同时在免疫系统中发挥不同的功能,分别诱导效应性免疫应答和建立中枢及外周免疫耐受。前两种MDC是成熟的DC,其摄取抗原能力弱,膜表面高表达CD40、CD80、CD86、CD54、HLA-DR、MHC-II和B7等成熟型标记物,能递呈抗原刺激初始型T细胞增殖,调节初始型T细胞的分化,刺激已活化或记忆型T细胞参与免疫反应的发生,被认为是炎症性DC亚群,但两者区别尚未清楚。pDC是未成熟的DC,摄取抗原能力强,但由于表达CD40、CD80和CD86等协同刺激分子和MHC-II的低下,对初始T细胞的诱导亦较低,所以一般认为它们是调节性DC亚群;可以通过分泌免疫抑制因子或与MDC竞争结合位点,抑制初始T细胞的增殖及向效应细胞的分化、诱导Treg的生成等多重机制使T细胞耐受,并且无论pDC是否处于炎症环境、或为成熟状态及活化因子(病毒、CD40等)如何改变,其表型即协同刺激分子和MHC-II的表达均低下,可持续启动未致敏T细胞分泌免疫抑制因子IL-10诱导免疫耐受维持免疫稳态^[17,18]。DC在气道炎症中的作用与其成熟程度和功能有关。在无炎症状态下,肺实质DC具有未成熟表型;而多种炎症刺激物引起炎症时,引流淋巴结中的DC具有成熟表型,协同刺激分子和MHC-II的表达增高^[19]。在哮喘的过敏性气道炎症中伴随着局部多种趋化因子及炎症介质的释放,吸引各种炎症细胞包括未成熟MDC和嗜酸性粒细胞到达炎症部位,使位于呼吸道黏膜和肺间质的局部MDC数目增多,MDC可以摄取加工抗原并迁徙至引流淋巴结,而后高表达协同刺激分子和MHC-II转为成熟的MDC,将抗原呈递给初始T细胞并诱导其增殖;还可以产生趋化因子募集已活化的记忆性Th2细胞,从而启动Th2型免疫反应,分泌趋化因子募集更多的嗜酸性粒细胞和未成熟MDC到达炎症部位,导致持续的气道变应性炎症^[20,21]。

3 Treg的生物学功能及其在气道炎症中的作用机制

Treg根据其表面标记,产生不同细胞因子并发挥不同作用。Treg分为CD4⁺CD25⁺Treg、Tr1和Th3等多种亚型。CD4⁺CD25⁺Treg因具有独特的作用方式和功能特征引起人们极大地关注。CD4⁺CD25⁺Treg在体内外均有调节作用,其作用机制主要有两

种方式: 通过细胞表面分子接触的直接作用方式和分泌 IL-4、IL-10 和 TGF- β 等细胞因子的间接方式发挥免疫调抑作用。动物和人类实验证明, CD4⁺CD25⁺Treg 在体外通过细胞接触能抑制自身反应性 T 细胞、B 细胞的活化和增殖以及免疫球蛋白的产生; 在体内不但能抑制气道高反应性(AHR)和白细胞募集, 而且能显著降低抗原致敏激发后的小鼠肺实质和气道腔内嗜酸性细胞数; 此外 CD4⁺CD25⁺Treg 还能降低参与 Th2 免疫反应的细胞数以及受抗原诱导的细胞因子 IL-5 和 IL-13, 并且可以通过降低趋化因子如嗜酸性细胞活化趋化因子 eotaxin/CCL11, 巨噬细胞衍生趋化因子 MDC/CCL22 和胸腺活化调节趋化因子 TARC/CCL17 抑制 Th2 型免疫反应, 通过诱导 CD4⁺T 细胞产生 IL-10, 抑制抗原诱导的气道炎症^[22-24]。Tr1 是不同于 Th1 和 Th2 的一类细胞, 组成性地表达 CTLA-4 和 GITR 等特定的细胞表面分子, 在 TCR 刺激下增殖较低, 而 IL-15 则是其体外增殖的关键细胞因子。Tr1 能产生高水平的 IL-10, 而 TGF- β 、IFN- γ 和 IL-5 产生量较低, 但几乎不产生 IL-2 和 IL-4。IL-10 不但是一种强大的免疫耐受诱导剂, 而且能有效地下调前炎症细胞因子的分泌起到抗炎作用。Tr1 主要通过分泌细胞因子 IL-10 发挥其强大的免疫抑制作用和抗炎作用, 在慢性气道炎症中起着重要的作用^[25]。

4 HO-1、DC 和 Treg 在气道炎症中的相互作用

4.1 HO-1 与 DC 的相互关系

Chauveau 等^[6]研究证实鼠和人的 DC 能表达一种功能活跃的 HO-1, 更重要的是 HO-1 的表达是未成熟 DC 的特性, 成熟的 DC 几乎缺乏表达 HO-1 的能力。实验证明在炎性刺激物作用下未成熟 DC HO-1 表达降低^[6], 提示 HO-1 可能启动未成熟 DC 抗炎和产生免疫耐受效应, 相反炎性刺激物如 LPS 则抑制了 DC 中 HO-1 的转录表达从而启动免疫效应反应。此外还发现 HO-1 能调节 DC 分泌细胞因子, 对成熟 T 细胞和效应 T 细胞反应起关键作用。DC 中 HO-1 的诱导表达抑制了 IL-12 分泌, 而促进 DC 表达 IL-10。IL-10 能有效地下调 DC 中前炎症细胞因子分泌而起抗炎作用。另有研究发现用 IL-10 处理过的 DC 也可以诱导 HO-1 的表达。可见 HO-1 和 IL-10 呈正相关^[26], 推测 IL-10 介导了 HO-1 和 DC 间相互作用。Inoue 等^[27]在动物模型中采用 HO-1 cDNA 转基因方

法以增加 HO-1 的表达, 发现 IL-10 水平增加, 并耐受 LPS 诱导的肺损伤, 提示 HO-1 和 IL-10 是强大的耐受诱导剂, 可以抑制 DC 成熟, 诱导机体对特定抗原的耐受。已知 DC 对 T 淋巴细胞的刺激强度又与其表面协同刺激分子表达有关, 协同刺激分子表达率越高, 对 T 细胞的刺激能力越强。DC 通过上调协同刺激分子和 IL-12 的分泌诱导初始 T 细胞的活化和极化, 因此阻断协同刺激分子途径以抑制免疫性疾病是有效的。Chauveau 等^[6]实验发现 HO-1 过表达能下调 DC 协同刺激分子表达, 抑制初始 T 细胞活化和活化 T 细胞增殖。因此, 在气道炎症中, HO-1 可以通过抑制 DC 成熟, 诱导产生 IL-10, 下调协同刺激分子等途径抑制初始 T 细胞和效应 T 细胞活化和增殖而抑制免疫效应, 诱导免疫耐受, 达到抗炎目的。

4.2 HO-1 与 Treg 的相互关系

Pae 等^[28]发现人类 CD4⁺T 细胞亚群 CD4⁺CD25⁻Treg 和 CD4⁺CD25⁺Treg 的 HO-1 表达有差异性。定量逆转录酶-聚合酶链反应(QRT-PCR)以及定量流式细胞计数分析的结果显示 CD4⁺CD25⁺Treg 组成性地表达 HO-1。用抗 CD3 结合抗 CD28 共同刺激 T 细胞不但可以诱导 CD4⁺CD25⁻Treg 的 HO-1 基因表达, 还可以上调 CD4⁺CD25⁺Treg 的 HO-1 基因表达。另外 HO-1 转染人类 Jurkat T 细胞后抑制了 T 细胞增殖, 用 HO-1 的特异竞争性抑制剂——锌原卟啉可以逆转该抑制效应。可见 CD4⁺CD25⁺Treg 可以通过表达 HO-1 发挥抑制 T 细胞增殖作用。Choi 等^[29]发现 Foxp3 基因存在于 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞核中并编码转录因子, 对其表型和功能具有重要的作用。通过 TCR 和 TGF- β 共刺激或基因高表达使 CD4⁺CD25⁻细胞获得 Foxp3, HO-1 表达增多, 促使外周血中 CD4⁺CD25⁻初始 T 细胞向 CD4⁺CD25⁺Treg 转化, 其可能的转化机制是 Foxp3 能诱导 Treg 表达 HO-1 和其他表型。CD4⁺CD25⁺Treg 这种调节性细胞亚型依赖细胞接触方式削弱了 T 细胞受刺激后细胞的增殖和细胞因子的分泌。可见, HO-1 和 Foxp3 的表达在 CD4⁺CD25⁺Treg 介导的免疫抑制中起了关键作用, 当 HO-1 的活性降低时 Treg 的抑制作用减弱。由此推测气道炎症中 HO-1 和 CD4⁺CD25⁺Treg 介导了免疫抑制作用, 而且 HO-1 的活性影响 CD4⁺CD25⁺Treg 的功能。

4.3 DC 与 Treg 的相互关系

Lewkowich 等^[30]发现 Treg 可以抑制 DC 的成

熟,从而耐受过敏原引起的气道高反应性。该调节途径缺陷则导致机体对过敏原易感。有实验表明^[31],携带抗原的未成熟 DC 和成熟 mDC 可诱导产生 CD4⁺CD25⁺ Treg,发挥免疫抑制功能,是调节免疫应答的机制之一。CD4⁺CD25⁺ Treg 的增殖具有抗原特异性,依赖于携带抗原的 DC 与其直接接触,抑制其他 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞增殖及 IL-2 产生。也有研究^[32]表明 Treg 的免疫抑制功能主要是依赖于未成熟 DC,而其抑制功能很容易被 GM-CSF 诱导成熟的 DC 逆转。Bacchetta 等^[33]发现在静息状态即没有危险信号时,未成熟 DC 摄取自身抗原、吸入性或食入性蛋白质以及坏死细胞,迁移到淋巴结后仍保持未成熟状态,淋巴结中的初始 T 细胞遇到未成熟 DC 递呈的抗原时,接受次优先信号,向 Treg 优先分化而不向效应 T 细胞分化;相反在有危险信号如前炎症细胞因子、微生物产物和 TLR 配体存在时,DC 遇到相同的抗原时被活化,共刺激分子及 MHC 分子的表达上调,分泌前炎症细胞因子,使初始 T 细胞向效应 T 细胞分化。移植免疫耐受研究发现调节性 DC 可以诱导初始 T 细胞分化产生 Treg,而 Treg 也可诱导 DC 祖细胞产生调节性 DC,形成一个调节环维持免疫耐受^[34]。但在气道炎症中尚未发现类似现象。由此可见,DC 通过诱导 Treg 形成并相互作用诱导免疫耐受,调节机体的免疫应答而抑制气道炎症反应。

综上所述,HO-1、DC 和 Treg 除在慢性气道炎症中具有各自独特的功能外,HO-1 还能通过影响 DC 和 Treg 而起到间接调节免疫应答的作用,即通过抑制 DC 的成熟,诱导 IL-10 的产生,下调协同刺激分子的表达等途径抑制初始 T 细胞和效应 T 细胞的活化和增殖而抑制免疫效应,诱导免疫耐受,达到抗炎目的;Treg 可以通过表达 HO-1 发挥免疫调抑作用,当 HO-1 的活性降低时 Treg 的调抑作用减弱;DC 可诱导 Treg 形成,Treg 反过来可抑制 DC 的成熟,诱导调节性 DC 亚群的产生,从

而诱导免疫耐受、调节机体的免疫应答并抑制气道炎症反应。因此,HO-1、DC 和 Treg 相互作用,共同介导气道炎症过程中的免疫调节机制,影响气道炎症反应的形成和持续,从而影响炎症的发生发展。但 HO-1、DC 和 Treg 之间的具体作用及其机制则有待进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] Donnelly LE *et al.* *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2001, **24**: 295
- [2] Chauveau C *et al.* *Am J Transplant*, 2002, **2**: 581
- [3] Braudeau C *et al.* *Gene Ther*, 2004, **11**: 701
- [4] Araujo JA *et al.* *J Immunol*, 2003, **171**: 1572
- [5] Abraham NG. *Curr Pharm Des*, 2003, **9**: 2513
- [6] Chauveau C *et al.* *Blood*, 2005, **106**: 1694
- [7] Haider A *et al.* *Pharmacol Exp Ther*, 2002, **300**: 188
- [8] Almolki A *et al.* *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2004, **287**: L26
- [9] Maestrelli P *et al.* *Eur Respir J*, 2003, **21**: 971
- [10] Zhou H *et al.* *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, **170**: 633
- [11] Wagener FA *et al.* *Blood*, 2001, **98**: 1802
- [12] Zampetaki A *et al.* *Exp Biol Med (Maywood)*, 2003, **228**: 442
- [13] Morse D *et al.* *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002, **27**: 8
- [14] Kinhult J *et al.* *Lung*, 2001, **179**: 1
- [15] Otterbein LE *et al.* *Nat Med*, 2000, **6**: 422
- [16] Pileggi A *et al.* *Diabetes*, 2001, **50**: 1983
- [17] Demedts IK *et al.* *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2005, **32**: 177
- [18] Lambrecht BN. *Allergy*, 2005, **60**: 271
- [19] Oriss TB *et al.* *J Immunol*, 2005, **174**: 854
- [20] Koh YI *et al.* *J Korean Med Sci*, 2005, **20**: 384
- [21] Vermaelen KY *et al.* *J Exp Med*, 2001, **193**: 51
- [22] von Herrath M *et al.* *Trends Immunol*, 2003, **24**: 540
- [23] Kearley J *et al.* *J Exp Med*, 2005, **202**: 1539
- [24] Shevach EM. *Annu Rev Immunol*, 2000, **18**: 423
- [25] Veldman C *et al.* *Int Arch Allergy Immunol*, 2006, **140**: 174
- [26] Lee TS *et al.* *Nat Med*, 2002, **8**: 240
- [27] Inoue S *et al.* *Hum Gene Ther*, 2001, **12**: 967
- [28] Pae HO *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2003, **306**: 701
- [29] Choi BM *et al.* *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, **327**: 1066
- [30] Lewkowich IP *et al.* *J Exp Med*, 2005, **202**: 1549
- [31] Mahnke K *et al.* *Blood*, 2003, **101**: 4862
- [32] Kubo T *et al.* *J Immunol*, 2004, **173**: 7249
- [33] Bacchetta R *et al.* *Autoimmun Rev*, 2005, **4**: 491
- [34] Min WP *et al.* *J Immunol*, 2003, **170**: 1304

The Roles and Interactions of Heme Oxygenase-1, Dendritic Cell and Regulatory T Cell in Airway Inflammation

Jing-Jing Wei, Li-Qing Xu, Wen-Wei Zhong, Jie Shao, Zhen-Wei Xia*

(Department of Pediatrics, Ruijin Hospital, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China)

Abstract Chronic airway inflammation is the common pathological process of many kinds of pulmonary diseases, there are several of cells, mediators and cytokines of inflammation those interact and result in various kinds of pathological changes of airway. Heme oxygenase-1 (HO-1), dendritic cell (DC) and regulatory T cell (Treg) have different mechanisms of action in airway inflammation. HO-1 has the effects of anti-inflammatory and anti-oxidation to protect cells against inflammatory injury, DC can induce persistence of airway inflammation while DC subsets with tolerogenic properties can induce immunotolerance to suppress development of airway inflammation, Treg can play an important role in regulating or suppressing immune responses to maintain immune homeostasis. They can interact in the development of airway inflammation. This article provides a review of the recent studies about their functions and interactions in chronic airway inflammation.

Key words heme oxygenase-1; dendritic cell; regulatory T cell; airway inflammation

Received: May 29, 2006 Accepted: August 11, 2006

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.30170988 and No.30570798), the Programs of Science and Technology Commission Foundation of Shanghai (No.44119662) and the Programs of Educational Commission Foundation of Shanghai (No.03BZ04)

*Corresponding author. Tel: 86-21-64333414, E-mail: xzw63@hotmail.com