

T 细胞相关亚群在儿童川崎病发病机制方面的研究进展

孙旭玲, 徐洪涛, 聂国明

【关键词】 川崎病; 发病机制; T 细胞亚群; 炎症细胞因子

【中图分类号】 R 725.4

【文献标识码】 A

doi: 10.13730/j.issn.2097-2148.2023.05.018

川崎病(Kawasaki disease, KD), 由日本川崎富作(Tomisaku Kawasaki)于 1967 年第一次报告, 又被称为黏膜皮肤淋巴结综合征^[1], 是一种会引起发热的全身性的血管炎性疾病, 诊断通常依靠一系列的体征和症状以及支持的实验室结果来明确。KD 的传统诊断标准为持续发热 5 天以上、双眼结膜充血、杨梅舌、口唇皲裂、四肢硬肿脱皮、多形性皮疹和颈淋巴结肿大(直径 ≥ 1.5 cm)^[2]。KD 主要在儿童中发生, 5 岁以下多见, 男孩的风险是女孩的 1.5 倍^[3]。在不同的地理位置, 流行病学模式非常不同, 发病率因种族和季节而异。在世界范围内, 发病率最高的是日本(5 岁以下儿童发病率为 239/10 万), 其次是韩国(113.1/10 万)和台湾(69/10 万)^[4-5]。在这些地区, 每 2~3 年就对 KD 进行一次强有力的全国性流行病学调查。事实上, KD 也是发达国家儿童获得性心脏病发生的一个主要原因^[2]。KD 的治疗主要是静脉注射丙种球蛋白(intravenous immunoglobulin, IVIG)联合阿司匹林, 这样可以明显降低冠状动脉瘤的发生率, 但冠状动脉损伤仍然存在, 仍然可能有冠状动脉瘤的发生^[6]。国内外的研究认为, KD 的发病与感染、免疫反应及遗传和环境易感性显著相关, 但其发病机制及治疗方面仍需要进一步的研究。本研究将简单阐述相关学者对 KD 的病因、发病机制及 T 细胞亚群在其中所起的作用的研究进展, 为对 KD 的发生发展及治疗的研究提供思路。

1 KD 的病因

1.1 感染因素

虽然 KD 的确切病因尚不清楚, 通常被认为是由于易感个体受到了感染因素的刺激, 导致其免疫系统

被激活所引起^[7]。但它被认为是一种感染触发, 随后是基因易感个体^[32]免疫系统的激活。该理论也得到了流行病学研究结果的支持。首先, KD 与病毒感染相似, 冬季和春季的发病率较高。与感染一样, 也会发生流行病和聚集性病例^[8]。KD 也会在 1~3 周内自行消退, 最常见的获得 KD 的年龄是 6 个月到 5 岁, 此时儿童对感染的易感性也是最高的。病例很少出现在 6 个月以下, 这可能是由于母体免疫球蛋白在儿童早期提供保护的原因。也有相关研究报道了 KD 与感染者密切接触后的感染传播模式类似。并且, 也有许多病例报告将 KD 与许多病毒因子联系起来, 如巨细胞病毒、腺病毒、鼻病毒、肠病毒等。但是, 目前为止病原体诱导 KD 的发生机制仍不清楚, 所以接下来仍需要进行广泛的探索和研究来得到证实。

1.2 免疫因素

与免疫反应相关的研究表明, 先天免疫系统和获得性免疫系统都参与其中, 导致免疫稳态受损^[9]。全身性的异常免疫活化是 KD 的一个明显特点, 目前认为细胞超抗原学说以及普通抗原学说是引起 KD 免疫异常活化的主要原因。在超抗原的作用下, KD 患者急性期外周血中 T 细胞亚群比例发生了改变, 其中 CD8⁺ T 细胞数量明显减少, 而 CD4⁺ T 细胞的数量则明显升高, 导致二者比例发生了变化, 这说明由超抗原引起的机体免疫系统的异常活化在 KD 患者血管炎的发生中起到了一定的作用, 这是形成血管免疫炎症的关键步骤^[10]。

1.3 环境易感因素

研究发现, KD 的发生具有季节性, 夏春季节 KD 的发病率要高于冬季^[11]。也有相关研究发现, 儿童长时间在太阳下暴晒也是 KD 发生的一个原因^[12]。这些统计研究都表明 KD 的发生与环境因素有一定的关系, 但是目前尚无完全明确的证据来支持这一观点, 仍需进行探索。

【作者单位】 430080 湖北武汉, 武汉科技大学医学院(孙旭玲); 中部战区总医院儿科(徐洪涛、聂国明)

【通信作者】 聂国明, E-mail: ngm333@163.com

2 发病机制

2.1 免疫活化

现有的大量报道表明, KD 的发病机制与患者机体的免疫系统被异常活化及免疫稳态遭到破坏有关, 在易感儿童中, 当有病原入侵时, 会导致机体全身的免疫系统异常活化, 表现为多种免疫细胞、免疫细胞相关炎性因子及免疫球蛋白等均发生变化, 其发生发展与 T 细胞的分化及 $CD4^+ / CD8^+$ T 细胞的变化为首要环节^[13]。另外也有研究发现, 在 KD 患者急性期的外周血中, $CD4^+$ T 细胞的数量明显增高, 而 $CD8^+$ T 细胞的数量明显降低, $CD4^+ / CD8^+$ T 细胞的比值增大, 这表明机体正处于免疫系统的异常活化状态^[14]。

2.2 炎性细胞因子

KD 患者急性期的异常活化的炎性细胞诱导产生大量的炎性细胞因子, 研究显示, KD 患者 IVIG 治疗前白细胞介素 6 (interleukin 6, IL-6)、IL-20、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor alpha, TNF- α) 和干扰素 γ (interferon gamma, ITN- γ) 水平显著升高, 治疗后 IL-6、IL-10 和 ITN- γ 水平迅速下降, 无冠状动脉病变 (coronary artery lesions, CALS) 的 KD 患者 IVIG 治疗后 TNF- α 水平显著降低, 而 KD CALS 患者及 IVIG 耐药的 KD 患者血清中的 TNF- α 水平升高^[15], 由此说明, KD 患者体内炎性因子的变化与 KD 的发生、发展、治疗及有无 CALS 有显著的关系。

2.3 血管内皮细胞的破坏及功能受损

血管内皮损伤也是 KD 可能的发病机制之一, 血管内皮细胞的破坏及功能损伤可以导致血管炎的发生, 而血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 可以导致血管通透性的增加, 并可以促进血管内皮细胞的增生及超氧化物的产生, 从而导致血管内皮的损伤。相关研究表明, 在 KD 患者体内, VEGF 水平有明显增高的表现, 并且有 CALS 的 KD 患者体内 VEGF 的水平较无 CALS 的患者体内的 VEGF 水平明显增多^[16]。因此, 作者可以认为血管内皮细胞的破坏及功能受损与其发病有关。

虽然现在对于 KD 的病因及发病机制暂不完全明确, 但作者将众多专家的研究进行简单综述, 结合多项研究得出结论, KD 的发生主要与机体的免疫系统异常活化有关, 而 T 细胞作为免疫反应的主要细胞, 在 KD 的发生发展过程中起到了非常重要的作用, 接下来将对 T 细胞的分类、作用及与 KD 发病过程的变化做一概述。

3 T 细胞不同亚群的作用

3.1 T 细胞的分类

机体的 T 淋巴细胞在不同细胞因子的作用下可以分化成不同的细胞亚群, 不同的亚群表达不同的标志物及分泌不同的细胞因子, 发挥不同的功能。下面将对 T 细胞不同的亚群的功能进行简单讲述。①辅助性 T 细胞 1 (T helper cell 1, Th1)。Th1 主要作用是分泌细胞因子, 增强细胞免疫的作用, 从而清除细胞内的病原体, 如细菌、病毒及其它特殊类型的病原体, Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 、TNF、IL-2 等细胞因子, 其中起主要效应的是细胞因子 IFN- γ , 其能够促进细胞的分化, 从而调节 Th 细胞的分化, 同时又能够活化巨噬细胞, 促进 $CD8^+$ T 细胞的增值、分化^[17]。②Th2 细胞。Th2 细胞参与了对寄生虫的免疫防御及哮喘和其他过敏性疾病, 并且对 B 细胞的活化起到了一定的辅助作用, 主要分泌 IL-4、IL-5、IL-10、IL-13。③Th3 细胞。Th3 细胞主要作用为分泌大量的转化生长因子 β (transforming growth factor beta, TGF- β), 以发挥免疫抑制的作用。④Th17 细胞。Th17 细胞主要分泌 IL-17、IL-6、IL-21、TGF- β 及 TNF- α 。Th17 细胞许多致病功能都归结于 IL-17, 包括招募中性粒细胞、激活先天免疫细胞、增强 B 细胞的功能, 诱导释放促炎细胞因子, 此外, IL-17 信号通路可诱导趋化因子和其他炎症介质的表达和释放, 包括细胞间粘附分子 1 (intercellular cell adhesion molecule 1, ICAM-1)、前列腺素 E2 (prostaglandin E2, PGE2), 并通过诱导基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinases, MMPs) 和抗菌肽促进组织损伤^[18]。⑤滤泡辅助性 T 细胞 (follicular helper T cell, Tfh)。人体中的 Tfh 最开始是在扁桃体中被认定为 Th 的亚群, 作用是帮助 B 细胞发挥功能, 并以 B 细胞淋巴瘤 6 (B cell lymphoma 6, BCL-6) 作为其主要转录因子^[19], BCL-6 还通过“抑制机制”间接和正向地指导参与 Tfh 分化的其他基因^[20]。Tfh 分泌的主要细胞因子为 IL-21, 主要参与调节 B 细胞的增殖。并且也发现一些 Tfh 同时能够表达其他转录因子, 并且除了 IL-21 外, 还具有与 Th1、Th2、Th17 和调节性 T 细胞 (regulatory cells, Treg) 等类似的细胞因子谱。⑥滤泡调节性 T 细胞 (follicular regulatory T cells, Tfr)。Tfr 主要作用是在淋巴生发中心与 Tfh 相互作用并参与 B 细胞的分泌。⑦Treg 是由 $CD4^+$ T 细胞分化, 主要功能为直接或通过分泌细胞因子来实现抑制免疫反应的作用。在自身免疫性疾病的发生、参与机体的免疫应答及维持机体的免疫反应

方面发挥作用。Treg 的标志物为叉头盒子 P3 (helix transcriptional factor P3, Foxp3), Foxp3 是一种转录因子,它对 T 淋巴细胞亚群的发育、谱系的形成及调节功能有至关重要的作用。⑧细胞毒性 T 细胞。细胞毒性 T 细胞即 CD8⁺ T 细胞,主要功能是特异性识别并杀伤靶细胞。

3.2 Tfh 的研究

3.2.1 Tfh 的分化 Tfh 是由来源于胸腺的原始 CD4⁺ T 细胞在不同因子的刺激下,进一步分化出的具有多个功能亚群混合体。在参与疾病发生发展及维持机体健康状态方面发挥了重要作用。Tfh 分化通常始于幼稚 CD4⁺ T 细胞与髓系专业抗原提呈细胞 (antigen-presenting cells, APC) 的相互作用,如树突状细胞。Tfh 的分化在很大程度上可以被认为是被分成 Tfh 和非 Tfh 效应细胞 (如 Th1、Th2、Th17 等) 之间的早期细胞命运决定。Tfh 和非 Tfh 命运的决定主要是在前两个细胞的分裂中做出的^[21]。Tfh 停留在淋巴结和脾脏是因为它们的目的是帮助 B 细胞,而非 Tfh 效应细胞,非 Tfh 作用主要是离开淋巴组织并流向感染或炎症部位^[22]。

3.2.2 Tfh 细胞亚群的分类及作用 据相关研究表明,Tfh 可以分为不同的亚群,可通过 CXC 亚族趋化因子受体 3 (CXC subfamily chemokine receptor 3, CXCR3) 和趋化因子受体 6 (chemokine receptor 6, CCR6) 的表达来鉴定,就像传统的 T 细胞亚群一样^[23-26]。表型为 CXCR3⁺ CCR6⁻ 亚群的 Tfh1 细胞,表达 T-bet 并产生 IFN- γ ;表型为 CXCR3⁻ CCR6⁻ 亚群的 Tfh2 细胞,表达转录因子 GATA3,产生 IL-4 和 IL-13;表型为 CXCR3⁻ CCR6⁺ 亚群的 Tfh17 细胞,表达转录因子 ROR γ t,产生 IL-17 和 IL-22。然而,并不是所有的细胞都能激活 B 细胞并促进免疫球蛋白的产生。幼稚 B 细胞似乎被 Tfh2 和 Tfh17 刺激,但不被 Tfh1 刺激^[24]。由于 Tfh1 上调 CXCR3, CXCR3 是一种允许淋巴细胞迁移的趋化因子受体,Tfh1 表达的 CXCR3 可以增强 Tfh1 从生发中心向 T-B 细胞边界的运输,导致 Tfh1 与 B 细胞之间快速而低效的同源相互作用,从而导致产生抗体的能力明显降低^[26]。因此,根据这些相关研究,可以得知 Tfh 细胞亚群在参与机体的免疫反应的发生及在维持机体的免疫平衡中起到了重要的作用。机体的免疫系统的崩溃会导致自身免疫性疾病的出现。自身反应性 B 细胞的增殖和自身抗体的产生在疾病的发展过程中起着至关重要的作用。从以上 Tfh 亚群与 B 细胞的关系提示 Tfh 也可能在自身免疫性疾病的发病机制中发挥作用。根据

功能不同的 Tfh 亚群的鉴别及功能变化认为它们的失衡可能也是体液免疫反应异常的原因之一^[27]。

3.3 Th1、Th2、Th17、Treg 及相关炎症因子在 KD 中的变化

对 KD 细胞因子的研究主要集中在炎症细胞因子 (如 TNF- α 、IL-1、IL-2、IL-6、IL-8) 和趋化因子 [如单核细胞趋化蛋白 1 (monocyte chemoattractant protein 1, MCP-1)]。这些炎症细胞因子和趋化因子在 KD 急性期升高。然而,导致免疫功能异常或炎症细胞因子过度表达的机制尚不清楚。近几年,有专家分析了 KD 患者血清 Th1 和 Th2 细胞因子水平。研究显示, KD 患者 IVIG 治疗前 IL-6、IL-20、TNF- α 和 ITN- γ 水平显著升高,治疗后 IL-6、IL-10 和 ITN- γ 水平迅速下降,无 CALS 的 KD 患者 IVIG 治疗后 TNF- α 水平显著降低,而 KD CALS 患者及 IVIG 耐药的 KD 患者血清中的 TNF- α 水平升高,研究比较 IVIG 治疗前后以及 KD 合并和不合并 CALS 患者的细胞因子水平,结果显示,测定血清 Th1/Th2 细胞因子谱可能有助于预测 KD 患者的预后和制定治疗策略^[28]。因此,作者认为 Th1、Th2 在 KD 的发生发展过程中起到了重要作用。

已知 KD 急性期患者血清 IL-17 和 IL-17 诱导的胞质分裂水平升高^[29],也有专家提出 KD 患者存在 Th17/Treg 失衡^[30]。研究显示,急性 KD 患者 Th17 细胞比例和细胞因子 (IL-17、IL-6 和 IL-23) 和转录因子 (IL-17A/F、ROR γ t) 的表达水平显著上调,而 Treg 转录因子 Foxp3 的比例和表达水平显著下调^[31]。因此,作者得出 Th17 细胞的增多与 Treg 的减少是 KD 急性发作的特点。Th17 细胞通过产生 IL-17 在自身免疫性疾病中发挥重要的作用^[32]。Th17 细胞产生的 IL-17A 和 IL-17F 具有促进炎症反应的能力,可作用于多种类型的细胞,诱导 IL-6、TNF- α 、IL-8 和粒细胞巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF) 等细胞因子以及趋化因子的表达,并使组织炎症持续存在^[33]。因此, Th17/Treg 失衡所致的炎症细胞因子如 TNF- α 和 IL-6 的异常产生可能在 KD 的发病过程中起重要作用。

4 小结

综上所述, KD 的病因及发病机制尚未完全明确,可能与感染及免疫的异常活化有关,而整个过程中 T 细胞各个亚群的数量发生了明显变化,提示 T 细胞亚群参与其中并起到了关键的作用,在正常生理状态下, Tfh 是可以维持正常的免疫调节功能,当患儿处于 KD 的急性期时, Tfh 驻留在淋巴结的生发中心区,发

挥帮助 B 细胞的增值及维持 B 细胞记忆和辅助 B 细胞产生抗体的作用,且 Th1、Th2、Th17、Treg 及其相关炎症因子均发挥了作用,所以通过了解 T 细胞及其亚群的分化、作用及相关炎症细胞因子的作用,对 KD 的发生、发展、诊断、病情的严重程度及疾病的治疗都有很大的帮助,所以积极探索 KD 的发病机制与 T 细胞及其亚群的关系是非常必要的,这对于深入认识疾病的发病机制、发生发展规律以及治疗策略的研究有非常重要的意义。

参 考 文 献

- [1] Kontopoulou T, Kontopoulou DG, Vaidakis E, *et al.* Adult Kawasaki disease in a European patient: A case report and review of literature[J]. J Med Case Rep, 2015, 9:75
- [2] Uehara R, Belay ED. Epidemiology of Kawasaki disease in Asia, Europe, and the United States[J]. J Epidemiol, 2012, 22(2): 79-85
- [3] Singh S, Vignesh P, Burgner D. The epidemiology of Kawasaki disease: A global update[J]. Arch Dis Child, 2015, 100(11): 1084-1088
- [4] Greco A, De Virgilio A, Rizzo MI, *et al.* Kawasaki disease: An evolving paradigm[J]. Autoimmun Rev, 2015, 14(8): 703-709
- [5] Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y. Update on etio and immunopathogenesis of Kawasaki disease[J]. Curr Opin Rheumatol, 2014, 26(1): 31-36
- [6] Toits Y, Shimaya M, Yamaura Y, *et al.* Kawasaki disease: Epidemiological differences between past and recent periods, and implications of distribution dynamism[J]. Pediatr Int, 2018, 60(4): 349-356
- [7] Yim D, Curtis N, Cheung M, *et al.* Update on Kawasaki disease: Epidemiology, aetiology and pathogenesis[J]. J Paediatr Child Health, 2013, 49(9): 704-708
- [8] Galeotti C, Bayry J, Kone-Paut I, *et al.* Kawasaki disease: Aetio-pathogenesis and therapeutic utility of intravenous immunoglobulin[J]. Autoimmun Rev, 2010, 9(6): 441-448
- [9] Ma CS, Wong N, Rao G, *et al.* Monogenic mutations differentially affect the quantity and quality of T follicular helper cells in patients with human primary immunodeficiencies[J]. J Allergy Clin Immunol, 2015, 36(4): 993-1006. e1
- [10] 高琳. 大剂量丙种球蛋白联合阿司匹林治疗小儿川崎病的临床应用分析[J]. 临床医药文献电子杂志, 2019, 6(97): 51-52
- [11] Kumrah R, Vignesh P, Rawat A, *et al.* Immunogenetics of Kawasaki disease[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2020, 59(1): 122-139
- [12] Okada S, Hashimoto S, Miyake A, *et al.* Kawasaki disease following severe sunburn injury[J]. Front Pediatr, 2020, 8:6
- [13] DelPrincipe D, Pietraforte D, Gambardella L, *et al.* Pathogenetic determinants in Kawasaki disease: The haematological point of view[J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(4): 632-639
- [14] Li F, Sun Y, Huang J, *et al.* CD4/CD8 + T cells, DC subsets, Foxp3, and IDO expression are predictive indicators of gastric cancer prognosis[J]. Cancer Med, 2019, 8(17): 7330-7344
- [15] Wang Y, Wang W, Gong F, *et al.* Evaluation of intravenous immunoglobulin resistance and coronary artery lesions in relation to Th1/Th2 cytokine profiles in patients with Kawasaki disease[J]. Arthr Rheum, 2013, 65(3): 805814
- [16] Tian J, Lv HT, An XJ, *et al.* Endothelial microparticles induce vascular endothelial cell injury in children with Kawasaki disease[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2016, 20(9): 1814-1818
- [17] Adewuya O, Irie Y, Bian K, *et al.* Mechanism of vasculitis and aneurysms in Kawasaki disease: Role of nitric oxide[J]. Nitric Oxide, 2003, 8(1): 15-25
- [18] Zhu S, Qian Y. IL-17/IL-17 receptor system in autoimmune disease: Mechanisms and therapeutic potential[J]. Clin Sci (Lond), 2012, 122(11): 487-511
- [19] Choi J, Crotty S. Bcl6-mediated transcriptional regulation of follicular helper T cells (T_{FH}) [J]. Trends Immunol, 2021, 42(4): 336-349
- [20] Choi J, Diao H, Faliti CE, *et al.* Bcl-6 is the nexus transcription factor of T follicular helper cells via repressor-of-repressor circuits[J]. Nat Immunol, 2020, 21(7): 777-789
- [21] Di Toro D, Winstead CJ, Pham D, *et al.* Differential IL-2 expression defines developmental fates of follicular versus nonfollicular helper T cells[J]. Science, 2018, 361(6407): eaao2933
- [22] Crotty S. T follicular helper cell biology: A decade of discovery and diseases[J]. Immunity, 2019, 50(5): 1132-1148
- [23] He J, Tsai LM, Leong YA, *et al.* Circulating precursor CCR7(lo) PD-1(hi) CXCR5 CD4 T cells indicate Tfh cell activity and promote antibody responses upon antigen reexposure[J]. Immunity, 2013, 39(4): 770-781
- [24] Morita R, Schmitt N, Bentebibel SE, *et al.* Human blood CXCR5 (+) CD4 (+) T cells are counterparts of T follicular cells and contain specific subsets that differentially support antibody secretion[J]. Immunity, 2011, 34(1): 108-121
- [25] 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[J]. Immunity, 2013, 39(4): 758-769
- [26] Bentebibel SE, Lopez S, Obermoser G, *et al.* Induction of ICOS + CXCR3 + CXCR5 + TH cells correlates with antibody responses to influenza vaccination [J]. Sci Transl Med, 2013, 5(176): 176ra32
- [27] Kurata I, Matsumoto I, Sumida T. T follicular helper cell subsets: A potential key player in autoimmunity[J]. Immunol Med, 2021, 44(1): 1-9
- [28] Butcher MJ, Zhu J. Recent advances in understanding the Th1/Th2 effector choice[J]. Fac Rev, 2021, 15, 10:30
- [29] Shimizu C, Jain S, Davila S, *et al.* Transforming growth factor-beta signaling pathway in patients with Kawasaki disease[J]. Circ Cardiovasc Genet, 2011, 4(1): 16-25
- [30] Jia S, Li C, Wang G, *et al.* The T helper type 17/regulatory T cell imbalance in patients with acute Kawasaki disease[J]. Clin Exp Immunol, 2010, 162(1): 131-137
- [31] Takahashi K, Oharaseki T, Yokouchi Y. Update on etio and immunopathogenesis of Kawasaki disease[J]. Curr Opin Rheumatol, 2014, 26(1): 31-36
- [32] Crome SQ, Wang AY, Levings MK. Translational mini-review series on Th17 cells: Function and regulation of human T helper 17 cells in health and disease[J]. Clin Exp Immunol, 2010, 159(2): 109-119
- [33] Choy E. Understanding the dynamics: Pathways involved in the pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. Rheumatology (Oxford), 2012, 51 (Suppl 5): v3-v11