

CD4+T细胞亚群的新认识及对炎症性肠病研究的指导

郑长青, 胡刚正

郑长青, 胡刚正, 中国医科大学附属第二医院消化内科 辽宁省沈阳市 110003
项目负责人: 郑长青, 110003, 辽宁省沈阳市三好街 36 号, 中国医科大学附属第二医院消化内科. zhengchangqing88@163.com
电话: 024-83956383 传真: 024-83956682
收稿日期: 2003-10-10 接受日期: 2003-11-19

摘要

大量证据提示CD4+T淋巴细胞在炎症性肠病的发病中起重要作用. CD4+T淋巴细胞可根据表型, 细胞因子表达谱和功能等方面的差异分为多个亚群, 研究这些亚群的分类、极化(或分化)、功能特点及相互关系是认识T细胞致病机制的基础. 目前对Th1/Th2的极化过程已积累了丰富的认识. 近年来很多学者认为调节性T淋巴细胞是一个能产生明显免疫抑制作用的相对独立的T细胞亚群, 并提出致病性T细胞/调节性T细胞平衡是机体调节免疫反应的主要模式, 其紊乱可诱发免疫性疾病, 包括炎症性肠病. 本文就这些新认识作一综述并针对炎症性肠病的研究提出一些看法.

郑长青, 胡刚正. CD4+T细胞亚群的新认识及对炎症性肠病研究的指导. 世界华人消化杂志 2004;12(3):505-511
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/505.asp>

0 引言

CD4+T淋巴细胞可分为很多功能不同的亚群, 大量证据提示这些亚群的紊乱可能是炎症性肠病(IBD)的重要发病机制. 很早就根据细胞因子表达谱的不同将辅助性T细胞分为Th1细胞和Th2细胞, 并提出Th1/Th2平衡失调可能是IBD的发病机制之一. 近年来很多学者倾向于将抑制性T淋巴细胞重新命名为调节性T淋巴细胞(Tr细胞), 认为是一个在表型、细胞因子表达谱和功能上相对独立的T细胞亚群, 并提出致病性T细胞/调节性T细胞平衡是机体调节免疫反应的主要模式, 其紊乱可诱发免疫性疾病, 包括炎症性肠病. 因此, 关于CD4+T细胞各亚群的分类、极化机制、表型和功能特点及相互关系等研究一直很受关注. 此领域的新认识可能对炎症性肠病的研究提供重要的指导作用.

1 CD4+T细胞亚群

人体的T细胞来源于胸腺, 在外周经历活化、增生和分化后形成成熟的效应T细胞, 无论是初始T细胞还是成熟T细胞, 在表型和功能上均表现为高度异质性. 在胸腺中经过阳性选择后, T细胞可分为CD4+T细胞和CD8+T细胞, 这种膜表面标记与功能差异相关, 其分别介导与人类主要组织相容性抗原复合体II(MHC

II)和I(MHC I)分子的结合, 多数CD8+T细胞以直接细胞毒性作用为功能特点. 根据功能差异, 很早就从理论上将CD4+T细胞分为辅助性T细胞(Th细胞)和抑制性T细胞(Ts细胞). Th细胞主要表现为增强免疫应答, Ts细胞则相反. 1986年Mosmann et al^[1]首先根据分泌的细胞因子的不同将Th细胞分为Th1和Th2两大类, Th1细胞以表达IFN- γ 和IL-2为主, 不表达IL-4, Th2细胞以表达IL-4, IL-5, IL-10为主, 不表达IFN- γ . 此分类虽根据其细胞因子表达谱, 但能很好的代表其功能差异, 因为这种功能差异在很大程度上正是由其分泌的不同细胞因子所决定. Th1细胞促进B细胞分泌IgG2 α , Th2细胞促进B细胞分泌IgE, IgG1, Th1细胞的保护效应主要针对肿瘤和细胞内微生物, Th2细胞主要针对细胞外寄生虫. Th1细胞介导的病理过程和疾病主要有迟发型高敏反应(DTH), 类风湿性关节炎, I型糖尿病, Chron病, 甲状腺炎, 葡萄膜炎等, Th2细胞主要介导嗜酸性粒细胞相关细胞毒性作用, 过敏性疾病, 哮喘等^[2]. 在后来的研究中发现, IFN- γ 与IL-2, IL-4与IL-10的表达常不一致, 且其功能差别也大, 故最近已有权威文献^[3]用Th1细胞表达IFN- γ 和TNF- β , Th2细胞表达IL-4, IL-5, IL-9, IL-13来表述. 在实际研究中, 一般只以高表达IFN- γ 和IL-4分别代表Th1细胞和Th2细胞. Th0细胞曾被用来表示同时低表达IFN- γ 和IL-4的一类亚群, 一般被认为是初始T细胞向成熟Th1/Th2细胞分化的过渡细胞群. 在口服耐受的研究中发现一类高表达IL-10和TGF- β 的T细胞, 其能产生很强的抗原特异性免疫抑制和非特异性旁路抑制作用, 这种介导口服耐受的T细胞被称为Th3细胞^[4]. 其前体细胞及分化过程尚不清楚, 但既然其以抑制免疫反应为功能特点, 继续划入Th细胞行列就不太合适了. 尽管1970年代初在概念上已明确提出了Ts细胞^[5], 但由于这种抑制作用的细胞和分子机制并不清楚, 考虑到在很多情况下, 即使是Th1细胞, Th2细胞或细胞毒性T细胞(CTL), 在发挥免疫效应的同时也能对其他免疫细胞的活化、增生和表达效应因子产生抑制作用, 所以目前的教科书仍认为Ts细胞只是一个功能上的概念, 而不代表一个较独立的细胞群体^[6]. 近年的研究进展已对这一观点提出了挑战, 越来越多的学者认为机体内存在以抑制免疫反应为主要功能特点的独立CD4+T细胞亚群已不容置疑, 并倾向于用Tr细胞来统一表示此类细胞^[7-10].

2 调节性T细胞

T细胞的克隆剔除和无能化(Anergy)被公认为机体耐受自身及外来抗原的主要机制,但自反应T细胞及外来抗原和其抗原特异性T细胞在机体内的同时存在却未表现出明显的自身免疫病或高敏反应提示机体内存在一种主动免疫抑制的耐受机制^[11-14].近年研究证明Tr细胞是介导这种主动免疫耐受的主要细胞.机体内存在以抑制免疫反应为主要功能特点的T细胞亚群的最有力证据来自动物试验.将某些致病性抗原或半抗原以适当剂量灌服小鼠并未观察到病理反应,从其脾脏或外周血中分离的T细胞转输到同基因小鼠体内不但不引起不良反应,而且能产生强力的抑制相应抗原所诱发的病理反应,此类T细胞被称为Th3细胞,体外培养中能高表达IL-10和TGF- β 而或不低表达IFN- γ ,IL-4,并能抑制Th1/Th2细胞的活化增生^[4,15-16].人类或小鼠的CD4+T细胞,在加IL-10的体外培养环境下反复刺激能诱导出一类高分泌IL-10和TGF- β 的T细胞亚群,被称为Tr1细胞,其能抑制其他T细胞的增生,动物体内试验中能抑制结肠炎的发展^[17-18].生长期胸腺切除小鼠(d3Tx)能自发多器官的自身免疫性炎症反应,如:胃炎,卵巢炎,睾丸炎,甲状腺炎等,将裸鼠转输被除去CD4+CD25+T细胞的正常鼠CD4+T细胞也产生类似的自身免疫病,这些炎症能被转输正常小鼠的CD4+CD25+T细胞所抑制^[11,19-20].重度联合免疫缺陷鼠(SCID)转输正常鼠CD45RB^{high}CD4+T细胞亚群能诱发结肠炎,而转输CD45RB^{low}CD4+T细胞亚群能阻止这种结肠炎的发生^[21].这些符合Tr细胞功能特点的T细胞亚群的前体细胞和分化过程是否在本质上一致尚不清楚.Th3细胞和Tr1细胞较为相似,均可看作外来抗原特异性Tr细胞,CD4+CD25+T细胞并无明显的外来抗原特异性,因为来自无菌环境饲养下的正常鼠的CD4+CD25+T细胞也能产生同样的体内免疫抑制作用,故被称为自发性Tr细胞,但有研究显示他们之间有明显的联系^[22].在人体或小鼠,CD4+CD25+T细胞约占外周血CD4+T细胞的5-10%,而相似比例的胸腺CD4+CD8-T细胞表达CD25并能产生如外周血CD4+CD25+T细胞同样的免疫抑制作用^[23-27].值得注意的是成人外周血CD4+CD25+T细胞的CD25表达水平有明显差别,高表达的只占很小部分^[28].有研究认为CD25的表达发生在CD4+CD8+双阳T细胞向CD4+CD8-T细胞转化阶段^[24-25].此类细胞在IL-2,CD28或B7基因剔除小鼠外周血中没有或很少说明其在CD4+CD25+T细胞分化或增生中起重要作用^[24,29].转录因子Foxp3特异的表达于自发性Tr细胞,其基因缺陷与自身免疫性疾病相关,通过反转录病毒转染Foxp3基因能促使初始T细胞向Tr细胞分化,因此其被看作参与Tr细胞分化的重要分子^[30].很多研究发现Tr细胞能高表达IL-10和TGF- β ,用相应抗体中和此细胞因子则其体内免疫抑制作用降低说明Tr细胞的功能可以通过这些抑制性细胞因子来实现^[31-32],也有研究提示直

接细胞接触是介导Tr细胞调节功能的重要途径^[23,33].CTLA-4可能在CD4+CD25+T细胞的分化或免疫抑制作用中发挥一定作用,其主要表达在CD4+CD25+T细胞表面,抗CTLA-4抗体能使CD4+CD25+T细胞的体内免疫抑制作用减弱^[29,34-35].肿瘤坏死因子受体超家族成员GITR(TNFRSF18)主要表达于CD4+CD25+T细胞,给与GITR特异性抗体或除去GITR高表达T细胞能诱导正常小鼠发生器官特异性自身免疫病,提示其在介导Tr细胞的免疫抑制作用中扮演重要角色^[36].

3 CD4+T细胞极化

T细胞极化(Polarization)指生理或病理状态下,各种初始CD4+T细胞在某种抗原刺激和一定的抗原提呈环境下,被克隆剔除、无能化或克隆扩增并向表型和功能不同的各类细胞亚群转变的过程.研究这一过程的分子机制是认识T细胞亚群稳态或失调并用以防病治病的基础.目前只有Th1/Th2的极化过程被研究的较清楚.

一般认为人体T细胞来源于胸腺,在胸腺内经过选择后分化为初始T细胞,然后到达次级淋巴组织的T细胞富集区,在抗原刺激下活化、克隆扩增并分化为各种功能成熟的T细胞亚群.普通抗原有效活化T细胞一般至少需要两种信号途径.一种为MHC-抗原/TCR-CD3途径,另一种被称为协同刺激途径(共激途径),包括B-7/CD28,B-7/CTLA-4,CD40/CD40L,ICAM/LFA-1,CD58/LFA-2等.要阐述T亚群的极化机制,首先需回答其极化结果主要由不同初始T细胞的内在的分化方向的选择性所决定还是由相似的无分化选择性的初始T细胞在不同的抗原提呈环境中分化而来,前者称为选择学说,后者称为分化学说^[37-38].这两种学说均是针对Th1/Th2极化而提出的,由于在初始T细胞上找不到代表分化选择性的标志和分化学说得到越来越多的证据的支持,选择学说已不受关注.分化学说的直接证据为体外培养中,加不同的细胞因子能控制T细胞的分化方向^[2,39].此观点已广泛接受,根据此学说,T细胞的极化由抗原提呈环境所决定,一般认为环境中的大分子物质作用于细胞首先必须通过其膜表面的受体,所以我们首先要考虑的就是哪些膜表面受体介导了T细胞的极化,依据抗原提呈理论,MHC/TCR,共激分子及其受体,细胞因子和黏附分子及其受体等最可能参与T细胞的极化.

抗原-MHC/TCR-CD3途径:初始T细胞的活化一般需要抗原的刺激,体内试验中观察到抗原至少可以通过其种类、接触途径、剂量和持续时间来影响T细胞的极化.很多抗原和半抗原小剂量口服可诱导以分泌IL-10和TGF- β 为主的特异性Tr细胞,大剂量口服能促使抗原特异性T细胞克隆剔除或无能化,而经皮肤、静脉或灌肠等途径可诱导Th1或Th2型细胞免疫^[4].抗原的种类能决定极化,如:自身抗原趋向诱导T细胞向克隆剔除、无能化或Tr极化,三硝基苯磺酸(TNBS),

髓磷脂碱性蛋白(MBP)等倾向诱导 Th1 型反应, 恶唑酮, 多数寄生虫表面抗原等倾向诱导 Th2 型反应, 其反应类型和强度与抗原接触的次數(持续时间)有关^[40-43]. 这些现象的细胞和分子机制尚不清楚. 一般认为 T 细胞的 TCR 重组后, 不同克隆的 T 细胞 TCR 结构不同, 这种差别使其对各种抗原的亲合性不同, 那么不同抗原所诱发的 T 细胞极化方向是否主要由 TCR/CD3 的结构和抗原特异性差异所决定呢? 尽管一般认为 TCR 的特异性及与自身 MHC 分子复合物的结合力高低在胸腺内 T 细胞的阴性/阳性选择中起重要作用, 但在生理状态下外周淋巴细胞 TCR 的抗原特异性与极化的关系尚没有明确证据的支持, 不过病理情况下 TCR α/β 链的异常足以诱发 T 细胞介导的自身免疫性疾病^[44-45]. 在用体外培养方法分析 T 细胞的极化状态和极化条件时, 经常用抗 CD3 和抗 CD28 抗体刺激 T 细胞活化增生, 似乎认为所用的不同抗 CD3 和抗 CD28 抗体及各种抗原通过 TCR/CD3 途径的作用是完全一致的, 只起激发作用, 并不决定其极化方向. 可能是因为认识到 TCR 与 CD3 以非共价键结合成复合体, TCR 与 MHC 分子复合物结合后向胞内转导第一信号均由 CD3 通过其胞内的免疫受体酪氨酸活化基序(ITAM)来完成.

协同信号分子途径: T 细胞膜表面的共激分子受体与抗原呈递细胞(APC)及其他细胞表达的天然配体结合所介导的第二信号途径在 T 细胞的活化和极化中可能是很重要的. T 细胞膜表面的 CD28 和 CTLA-4 在结构上有很大的同源性, 均能结合 B7-1 和 B7-2. CTLA-4 的结合能力更强, 与 CD28 相反, 某些情况下其与 B7 结合能抑制 T 细胞的活化^[46]. CD28 与 B7-2 结合倾向于促进 Th2 极化^[47-48]. 因此, T 细胞表面 CD28/CTLA-4 的表达和密度比例及不同的共激分子环境在其极化中可能发挥一定的作用. 其他的 LFA-1/ICAM, LFA-2/LFA-3, CD40L/CD40, FASL/FAS, 有丝分裂原受体/有丝分裂原等信号途径在 T 细胞的极化中作用尚不肯定.

细胞因子受体/细胞因子途径: T 细胞极化, 尤其是 Th1/Th2 极化中研究最多、最明确的是细胞因子的作用. IL-12, IFN- γ 能促进 T 细胞向 Th1 极化而抑制向 Th2 极化. IL-4 能促进 Th2 极化而抑制 Th1 极化. IL-10, TGF- β 能抑制 Th1/Th2 极化, 而促进 Tr 极化. IL-18, IL-13 可能倾向于分别促进 Th1 和 Th2 极化. 细胞因子的这些作用是被充分证实的, 体外培养的 T 细胞活化过程中加入不同的细胞因子或抗细胞因子抗体能很好的控制其极化方向, 人体或动物体内给予某些细胞因子或细胞因子抗体能明显影响极化结果, 针对细胞因子或其受体的转基因或基因剔除动物模型也观察到相似的结果^[49-51].

胞内信号途径-转录因子: TCR/CD3 和 CD28 途径的信号转导是通过一序列的蛋白酪氨酸激酶(PTK), 磷脂酶, 丝裂原激活的蛋白激酶(MAP 激酶)等级联放大, 最后活化一些相应的转录因子. 转录因子在 Th1/Th2 极化

中的作用被研究的较多. STAT1, STAT3, STAT4, STAT6, c-maf, NFAT, NIP45, fos/Jun, NF- κ B, T-bet, GATA-3 等在某些条件下均可参与 T 细胞的活化, 但目前明确的决定 Th1 极化的转录因子主要有 STAT1, STAT4, T-bet, 决定 Th2 极化的有 c-maf, GATA-3 和 STAT6^[39, 52-61]. IL-12 诱导的 Th1 极化需要 STAT4 的活化^[52]. T-bet 是 2000 年才确定的 Th1 极化的重要转录因子, 其在 Th1 表达而在 Th2 不表达, T-bet 基因缺陷小鼠 CD4⁺T 细胞 IFN- γ 表达下调^[53-55]. GATA-3 选择性表达在 Th2 而不在 Th1 细胞, 能促进 IL-4, IL-5, IL-13 的表达, 在 Th2 极化中起关键作用, STAT6 可能位于 GATA-3 的上游, 在 IL-4 诱导下活化, 其能促进 GATA-3 活化和表达^[60-61].

Grogan et al^[39]在体外培养条件下用加不同细胞因子或抗体(IL-4, IFN- γ , IL-12 和相应抗体)的方法来研究 Th1/Th2 极化过程, 发现初始 T 细胞在活化的早期可同时低表达 IL-4 和 IFN- γ , 并且不依赖 STAT4, T-bet, GATA-3 和 STAT6, 持续的极化条件刺激下, 活化的 T 细胞开始增生分化为高分泌 IFN- γ 的 Th1 细胞或高分泌 IL-4 的 Th2 细胞, 同时转录因子 T-bet 或 GATA-3 活化和高表达. 已极化的 Th1 或 Th2 细胞在 3-4 次分裂之前表现出明显的可塑性, 即在相反的极化条件下持续培养可使 T 细胞的极化倒转, 但在多次分裂后则难以使其极化倒转. 因此认为 T 细胞的完全极化需要经过活化(Activation)、定向(Commitment)、基因沉默(Silencing)和后遗传稳定(Epigenetic stabilization)等阶段.

APC^[62-65]: 如果认为机体内细胞因子, 共激分子等环境因素在 T 细胞的极化中起关键性作用, 那么这些环境因素始初又有哪些细胞决定呢? 根据抗原提呈理论, 首先考虑到的应该是抗原提呈细胞. 专职性 APC 包括树突状细胞(DC)和巨噬细胞, 在膜相关的免疫反应中, DC 发挥主要抗原提呈作用, 因此各种表型不同的 DC 是否控制着这些环境因素并决定 T 细胞的极化呢? 近年研究提示可能存在这种调节机制. 在小鼠的次级淋巴器官中至少有三类主要的 DC 亚群: CD8 α ⁺ 淋巴样 DC (CD8 α ⁺ lymphoid DC), CD8 α ⁻ 髓样 DC (CD8 α ⁻ myeloid DC), 郎格罕氏细胞源 DC (LC-derived DC). CD8 α ⁺ 淋巴样 DC 主要位于淋巴器官的 T 细胞区和胸腺的皮质区, 高表达 IL-12 和 IFN- γ . CD8 α ⁻ 髓样 DC 主要位于脾的边缘区, 抗原活化后进入 T 细胞区, 还位于派尔集合淋巴结(peyer's patches)的上皮下区, 不表达 IL-12 或 IFN- γ . 郎格罕氏细胞源 DC 位于淋巴结的 T 细胞区, 高表达 IL-12. 通过体外抗原刺激活化不同 DC 亚群后将其转入同基因鼠体内的方法证实 CD8 α ⁺ 淋巴样 DC 亚群倾向于诱导 Th1 型细胞免疫, 而 CD8 α ⁻ 髓样 DC 亚群诱导 Th2 型反应. 在人类, 目前比较清楚的有三个亚群: 类浆细胞样 DC(plasmacytoid DC), 髓样 DC (myeloid DC, interstitial DC), 郎格罕氏细胞源 DC. 类浆细胞样 DC 主要表型为 CD11c-CD11b-IL3R+CD1a-, 位

于淋巴器官的T细胞区, 体外试验中高表达 INF- α , 不表达 IL-10 和 IL-12, 对 CD4+T 细胞的激发作用较弱. 髓样 DC 主要表型为 CD11c+CD11b+IL3R-CD1a-, 位于淋巴样器官的T细胞区和组织间质, 高表达 IL-10 和 IL-12, 不表达 INF- α , 对 CD4+T 细胞的激发作用较强. 郎格罕氏细胞源 DC 表型为 CD11c+CD11b+IL3R-CD1a+, 位于淋巴结的T细胞区和上皮, 高表达 IL-12, 不表达 IL-10 和 INF- α , 对 CD4+T 细胞的激发作用较强. 在体外培养中, 单核细胞起源的 CD11c+ 髓样 DC 促进 Th1 型反应, 而 CD11- 类浆细胞样 DC 诱导 Th2 型反应, 其极化程度与 DC 的成熟状态和 DC/T 细胞比例有关. DC 诱导 Th1 型细胞免疫是通过其分泌 IL-12 和 IFN- γ 来介导的, 诱导 Th2 型反应的机制尚不清楚, 可能并不是通过分泌 IL-4 介导. G-CSF 注入人体能明显升高外周血中 CD11c- 类浆细胞样 DC 前体细胞的数量, 此类 DC 能诱导 T 细胞分泌较高的 IL-10 而发挥免疫抑制作用^[66-67]. 在外周耐受诱导过程中, DC 可能在一定程度上控制了 Tr/Th 极化方向. Akbari et al^[68] 发现小鼠鼻内给予卵清蛋白(OVA)能诱导抗原特异性 CD4+T 细胞的低反应, 并从肺输出淋巴结中分离纯化出一种 B7-1^{hi}B7-2^{hi}CD40+MHC II CD8- 表型的 DC, 其能高分泌 IL-10, 体外培养中能诱导出高表达 IL-10 的 Tr1 类似细胞, 将其转输给同基因小鼠能明显的诱导抗原特异性免疫耐受.

4 调节性T细胞/致病性T细胞平衡

CD4+T细胞调控机体免疫反应的模式尚未阐明. 有两个基本点是肯定的, 一方面T细胞要避免对自身组织造成自主性病理损伤, 另一方面又要保持对外来微生物或抗原的有效对抗或适应(耐受). 这就要求机体的免疫功能状态处于一定水平和免疫细胞有特异性识别能力. T 细胞的特异性识别机制主要是靠其在胸腺发育中的阳性/阴性选择来实现. 已知正常机体内存在自反应 T 细胞, APC 呈递的自身肽/MHC 分子(self-peptide-self-MHC molecules)对初始 T 细胞及记忆性 T 细胞外周数量的维持发挥重要作用, 说明正常人外周 T 细胞经常通过 TCR 认识自身成分, 但很少引起自身免疫病^[11-13, 69-71]. 某些外周 T 细胞克隆在识别自身或外来抗原上可能并不存在绝对的特异性^[72]. 机体经常从不同途径接触外来抗原, 但对不同抗原表现出不同的应答, 对同一抗原在多次接触中机体的特异性免疫既可以越来越强, 也可以越来越弱(耐受), 以适应机体的不同需要. 比如多数病毒的感染或疫苗的多次接种使机体的特异性免疫增强, 而多数来自食物和肠道微生物的抗原在反复的消化道接触中却能使机体对其特异性免疫越来越弱(免疫耐受). 这些现象只靠已知的特异性识别机制(阳性/阴性选择)和整体的免疫状态高低是难以解释的. 根据近年来对调节性 T 细胞认识的深入, 此处认为 Tr 细胞/致病性 T 细胞(Tp 细胞)平衡是机体调节免疫反应的重要机制

之一. Tp 细胞包括 Th1/Th2 细胞及活化的细胞毒性 T 细胞(CTL)等. 作者将 Tr/Tp 平衡设想为自身抗原特异性 Tr 细胞(Trs 细胞)/自身抗原特异性 Tp 细胞(Tps 细胞)平衡和外来抗原特异性 Tr 细胞(Tre 细胞)/外来抗原特异性 Tp 细胞(Tpe 细胞)平衡两种模式, 这两类平衡相互影响, 共同调节机体的免疫反应. 正常情况下, T 细胞接受小量的 APC 提呈的自身抗原肽并倾向于向 Trs 细胞分化, Trs 细胞在 Tr/Tp 平衡中占优势而避免造成自身组织的病理性损伤, 某些情况下 Tps 细胞长期占优势而引起自身免疫病^[7]. 当机体初次接触某种外来抗原时, 初始 T 细胞接受提呈抗原后优势分化方向既可以倾向 Tre 细胞也可以倾向 Tpe 细胞, 或平衡极化. Tre 细胞占优势有利于 Trs 细胞分化, 此时引起的免疫反应较轻, 持续时间较短, 反复同样的刺激后 Tre 细胞占绝对优势并对此抗原产生免疫耐受. Tpe 细胞占优势则引起较强的免疫反应, 同时清除外来抗原的能力增强, 随着抗原的清除, APC 提呈自身抗原肽暂时性增加使 Trs 细胞大量分化以控制自身免疫损伤, 并使 Tpe 细胞下降到特异性记忆 T 细胞的基准水平, 如果 Trs 细胞不能足够产生则 Tpe 细胞持续维持在高水平以至再接触极微量的抗原也能诱发明显而持久的免疫损伤, 在另一种特殊情况下, 一度的 Tpe 细胞优势使 Tps 细胞分化大量激活或/和 Trs 细胞分化抑制, Trs/Tps 平衡中 Tps 细胞长期占支配地位, 引起某些需要外来抗原激发的自身免疫病.

5 炎症性肠病与 CD4+T 细胞

炎症性肠病包括 Crohn 病和溃疡性结肠炎, 其病因尚不清楚, 可能主要由遗传易感体质决定, 一般认为免疫调节紊乱是关键发病机制, 肠道菌群是这种免疫损伤过程的重要激发因素^[73]. 已知 CD4+T 细胞在免疫反应中起重要调节作用; 炎症性肠病病变局部总有 CD4+T 细胞的浸润并表现出异常的功能状态^[74-75]; Th1/Th2 型细胞免疫在外来抗原诱发的临床表现类似于炎症性肠病的动物模型及 SAMP1/Yit 鼠自发的与 Crohn 病表现相似的回肠炎中扮演重要角色^[40, 42, 76]; IL-10, IL-2, TCR α/β 基因缺陷鼠, 重度联合免疫缺陷鼠(SCID)转输正常鼠 CD4+CD45RB^{hi}T 细胞亚群均能自发慢性肠道炎症说明 T 细胞的功能缺陷足以诱发并维持炎症性肠病^[21, 45, 77-78]. 因此有理由认为 CD4+T 细胞的免疫调节功能紊乱是炎症性肠病发病的重要机制之一, 但介导这种病理损伤的免疫反应是如何被激发及机体为何不能通过正常的调节机制自主而有效的控制这种免疫反应目前还很不清楚. 现根据上述 CD4+T 细胞亚群的新观点谈一谈炎症性肠病的发病机制及治疗策略.

致病性 T 细胞: 炎症性肠病病变局部总存在异常表现的 CD4+T 细胞, 这些 T 细胞中的绝大部分很可能起促进炎症反应作用, 因此可将这部分看作致病性 T 细胞. 研究这些 Tp 细胞的表型特点, 细胞因子表达谱, 致病及其极化的病理生理机制并以阻断此过程来治疗此

病的思路是很自然的. 很多证据提示Th1细胞为Crohn病的主要Tp细胞, 溃疡性结肠炎的主要Tp细胞尚不很肯定, 典型的Th2细胞可能只起有限作用. IL-12和IL-18是Th1极化中重要的细胞因子, IL-4, IL-13促进Th2极化, IFN- γ 和IL-4, IL-5分别是介导Th1和Th2细胞免疫效应的关键分子, 因此分别用相应抗体中和其功能或基因控制手段阻断其表达可望成为Crohn病和溃疡性结肠炎的治疗方法^[3, 79]. 共激分子/共激分子受体在T细胞的活化中起重要作用, 其在炎症性肠病变局部表达异常, 故研究其表达异常的机制及如何控制这一信号途径来治疗炎症性肠病很有必要^[80-84]. 转录因子STAT4, T-bet和GATA-3, STAT6分别在Th1和Th2极化中起关键作用, 这些转录因子及其他参与T细胞活化的NF- κ B, STAT1, STAT3, c-maf, NFAT等均可能成为治疗靶点^[3, 85].

Th1/Th2平衡: 体内体外试验均证实Th1细胞与Th2细胞能相互拮抗, Th1细胞通过分泌IFN- γ 抑制Th2极化, Th2细胞也能通过分泌IL-4限制Th1型反应. 利用这种Th1/Th2相互拮抗的平衡机制, 是否可以用促进Th1/Th2一方极化以控制另一方过度极化的方法来治疗疾病呢? 动物试验中已观察到明显效果, 但能否用于治疗炎症性肠病尚需研究^[2, 86-87].

Tr/Tp平衡: Tr/Tp平衡失调可能是许多免疫性疾病的共同发病机制. 如果认为来自肠道菌群的抗原激发并维持了炎症性肠病的免疫反应且CD4⁺T细胞在这种炎症过程中起重要作用, 那么用Tr/Tp平衡失调来解释为什么此免疫反应会长期持续而不能形成免疫耐受似乎比较合理^[88-89]. 机体从肠道会经常接触多种外来抗原, 在正常情况下通过抗原特异性初始T细胞的克隆剔除或Tr细胞的有效极化产生抗原特异性免疫耐受, 以防止再次接触同种抗原引起过强的免疫反应而造成机体的损伤^[90]. 由于某些原因, 炎症性肠病患者既不能将抗原特异性T细胞剔除又不能产生足够的Tr细胞来限制Tp细胞, 使机体再接触很微量的特异抗原也能触发较强持续时间较长的免疫反应. 根据Tr/Tp平衡理论, 用促进抗原特异性或非特异性Tr极化以诱导免疫耐受来治疗自身免疫病或高敏反应可能更科学. 直接阻断Tp(如Th1/Th2)极化过程或效应分子可能降低机体的整体免疫能力, 不利于清除入侵的病原微生物及突变的自身细胞, 通过Th1/Th2平衡机制来治疗疾病可能需要很大剂量的细胞因子, 而大剂量细胞因子本身可能有不良反应. 利用Tr/Tp平衡来控制免疫性疾病符合机体本身的调节机制, Tr/Tp平衡为一动态过程, 促进外抗原特异性Tr极化能有效预防高敏反应, 却不影响整体的免疫防御能力(如口服耐受), 促进自身抗原特异性Tr极化能治疗自身免疫病, 而且不影响对致病微生物的免疫能力, 但由于目前对Tr细胞的认识不足, 还难以有效促进特异性Tr极化. 非特异性Tr细胞能通过旁观效应抑制免疫反应, 因此用Tr/Tp平衡机制来防治疾病

并非一定要针对抗原特异性Tr极化. 在动物试验中, 诱导抗原特异性口服耐受及局部或全身应用IL-10已显示出一定的防治效果, 但临床试验中单独应用IL-10似乎并不理想, 如何高效利用抗炎细胞因子和非特异性Tr极化来治疗炎症性肠病有待进一步研究^[91-96].

炎症性肠病在我国的发病率呈上升趋势, 但因病因不明还难以找到真正特异而有效的治疗方法^[97]. 在IBD与T淋巴细胞的关系上, 对Th1/Th2细胞研究较多, Th1/Th2平衡观念被广泛接受. 尽管近年来Tr细胞的作用在免疫学领域越来越受重视并被积极研究^[10], 但由于直到2001年才首次报道人体胸腺和外周血中的CD25⁺CD4⁺T细胞在表型、所占比例、体外增生特点、细胞因子表达谱, 尤其是体外培养中抑制CD25⁺CD4⁺T细胞增生和细胞因子表达等方面与鼠类的相应细胞十分相似^[23, 98], 所以到目前为止尚没有有关Tr细胞(CD25⁺CD4⁺T细胞)在IBD患者体内功能状态的研究资料. 作者认为根据已知的有关Tr细胞的认识及Tr/Tp平衡理论来研究IBD的发病机制很有必要, 当前的研究至少应回答: IBD患者外周血及病变局部CD25⁺CD4⁺T细胞与正常人相比是否存在数量和表型的差异; CD25⁺CD4⁺及CD25⁺CD4⁺T细胞对自身肽或肠道菌群抗原刺激的增生反应及细胞因子表达谱在患者与正常人间有无差别; 参与Tr极化和Tr细胞免疫调节效应的物质(Foxp3, B7-2/CTLA-4, ICOS/ICOSL, GITR, TGF- β 、IL-10、IL-2及其受体等)是否存在结构或功能缺陷; APC及Th1/Th2细胞对Tr细胞抑制作用的敏感性是否下降. 相信随着对这些问题的回答, CD4⁺T细胞在IBD发病中的作用机制会更加明确, 治疗更加有的放矢.

6 参考文献

- 1 Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986;136:2348-2357
- 2 Rocken M, Racke M, Shevach EM. IL-4-induced immune deviation as antigen-specific therapy for inflammatory autoimmune disease. *Immunol Today* 1996;17:225-231
- 3 Neurath MF, Finotto S, Glimcher LH. The role of Th1/Th2 polarization in mucosal immunity. *Nat Med* 2002;8:567-573
- 4 Garcia G, Weiner HL. Manipulation of Th responses by oral tolerance. *Curr Top Microbiol Immunol* 1999;238:123-145
- 5 Gershon RK. A disquisition on suppressor T cells. *Transplant Rev* 1975;26:170-185
- 6 吴厚生, 秦慧莲. 特异免疫应答细胞: T淋巴细胞与特异性细胞免疫. 陈慰峰. 医学免疫学. 第3版. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 89-97
- 7 Maloy KJ, Powrie F. Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol* 2001;2:816-822
- 8 Read S, Powrie F. CD4(+) regulatory T cells. *Curr Opin Immunol* 2001;13:644-649
- 9 Annacker O, Pimenta-Araujo R, Buren-Defranoux O, Bandeira A. On the ontogeny and physiology of regulatory T cells. *Immunol Rev* 2001;182:5-17
- 10 Francois BJ. Regulatory T cells under scrutiny. *Nat Rev Immunol* 2003;3:189-198
- 11 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor α -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995;155:1151-1164

- 12 Hemmer B, Vergelli M, Pinilla C, Houghten R, Martin R. Probing degeneracy in T-cell recognition using peptide combinatorial libraries. *Immunol Today* 1998;19:163-168
- 13 Hausmann S, Wucherpfennig KW. Activation of autoreactive T cells by peptides from human pathogens. *Curr Opin Immunol* 1997;9:831-838
- 14 Shevach EM. CD4+ CD25+ suppressor T cells: more questions than answers. *Nat Rev Immunol* 2002;2:389-400
- 15 Weiner HL. Induction and mechanism of action of transforming growth factor-beta-secreting Th3 regulatory cells. *Immunol Rev* 2001;182:207-214
- 16 Marth T, Ring S, Schulte D, Klensch N, Strober W, Kelsall BL, Stallmach A, Zeitz M. Antigen-induced mucosal T cell activation is followed by Th1 T cell suppression in continuously fed ovalbumin TCR-transgenic mice. *Eur J Immunol* 2000;30:3478-3486
- 17 Levings MK, Bacchetta R, Schulz U, Roncarolo MG. The role of IL-10 and TGF-beta in the differentiation and effector function of T regulatory cells. *Int Arch Allergy Immunol* 2002;129:263-276
- 18 Groux H, O'Garra A, Bigler M, Rouleau M, Antonenko S, de Vries JE, Roncarolo MG. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell responses and prevents colitis. *Nature* 1997;389:737-742
- 19 Shevach EM. Regulatory T cells in autoimmunity. *Annu Rev Immunol* 2000;18:423-449
- 20 Sakaguchi S. Animal models of autoimmunity and their relevance to human diseases. *Curr Opin Immunol* 2000;12:684-690
- 21 Powrie F, Leach MW, Mauze S, Caddle LB, Coffman RL. Phenotypically distinct subsets of CD4+ T cells induce or protect from chronic intestinal inflammation in C. B-17 scid mice. *Int Immunol* 1993;5:1461-1471
- 22 Zhang X, Izikson L, Liu L, Weiner HL. Activation of CD25(+) CD4(+) regulatory T cells by oral antigen administration. *J Immunol* 2001;167:4245-4253
- 23 Stephens LA, Mottet C, Mason D, Powrie F. Human CD4(+) CD25(+) thymocytes and peripheral T cells have immune suppressive activity in vitro. *Eur J Immunol* 2001;31:1247-1254
- 24 Papiernik M, de Moraes ML, Pontoux C, Vasseur F, Penit C. Regulatory CD4 T cells: expression of IL-2R alpha chain, resistance to clonal deletion and IL-2 dependency. *Int Immunol* 1998;10:371-378
- 25 Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, Kuniyasu Y, Shimizu J, Otsuka F, Sakaguchi S. Thymus and autoimmunity: production of CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol* 1999;162:5317-5326
- 26 Levings MK, Sangregorio R, Roncarolo MG. Human cd25(+) cd4(+) t regulatory cells suppress naive and memory T cell proliferation and can be expanded in vitro without loss of function. *J Exp Med* 2001;193:1295-1302
- 27 Ng WF, Duggan PJ, Ponchel F, Matarese G, Lombardi G, Edwards AD, Isaacs JD, Lechler RI. Human CD4(+)CD25(+) cells: a naturally occurring population of regulatory T cells. *Blood* 2001;98:2736-2744
- 28 Wing K, Ekmekci A, Karlsson H, Rudin A, Suri-Payer E. Characterization of human CD25+ CD4+ T cells in thymus, cord and adult blood. *Immunology* 2002;106:190-199
- 29 Salomon B, Lenschow DJ, Rhee L, Ashourian N, Singh B, Sharpe A, Bluestone JA. B7/CD28 costimulation is essential for the homeostasis of the CD4+CD25+ immunoregulatory T cells that control autoimmune diabetes. *Immunity* 2000;12:431-440
- 30 Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299:1057-1061
- 31 Maloy KJ, Powrie F. Regulatory T cells in the control of immune pathology. *Nat Immunol* 2001;2:816-822
- 32 Maloy KJ, Salaun L, Cahill R, Dougan G, Saunders NJ, Powrie F. CD4+CD25+ T(R) cells suppress innate immune pathology through cytokine-dependent mechanisms. *J Exp Med* 2003;197:111-119
- 33 Jonuleit H, Schmitt E, Kakirman H, Stassen M, Knop J, Enk AH. Infectious tolerance: human CD25(+) regulatory T cells convey suppressor activity to conventional CD4(+) T helper cells. *J Exp Med* 2002;196:255-260
- 34 Takahashi T, Tagami T, Yamazaki S, Uede T, Shimizu J, Sakaguchi N, Mak TW, Sakaguchi S. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 2000;192:303-310
- 35 Read S, Malmstrom V, Powrie F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med* 2000;192:295-302
- 36 Shimizu J, Yamazaki S, Takahashi T, Ishida Y, Sakaguchi S. Stimulation of CD25(+)CD4(+) regulatory T cells through GITR breaks immunological self-tolerance. *Nat Immunol* 2002;3:135-142
- 37 Le Gros G, Ben-Sasson SZ, Seder R, Finkelman FD, Paul WE. Generation of interleukin 4 (IL-4)-producing cells in vivo and in vitro: IL-2 and IL-4 are required for in vitro generation of IL-4-producing cells. *J Exp Med* 1990;172:921-929
- 38 Mosmann TR, Coffman RL. TH1 and TH2 cells: different patterns of lymphokine secretion lead to different functional properties. *Annu Rev Immunol* 1989;7:145-173
- 39 Grogan JL, Mohrs M, Harmon B, Lacy DA, Sedat JW, Locksley RM. Early transcription and silencing of cytokine genes underlie polarization of T helper cell subsets. *Immunity* 2001;14:205-215
- 40 Neurath MF, Fuss I, Kelsall BL, Stuber E, Strober W. Antibodies to interleukin 12 abrogate established experimental colitis in mice. *J Exp Med* 1995;182:1281-1290
- 41 Racke MK, Bonomo A, Scott DE, Cannella B, Levine A, Raine CS, Shevach EM, Rocken M. Cytokine-induced immune deviation as a therapy for inflammatory autoimmune disease. *J Exp Med* 1994;180:1961-1966
- 42 Boirivant M, Fuss IJ, Chu A, Strober W. Oxazolone colitis: A murine model of T helper cell type 2 colitis treatable with antibodies to interleukin 4. *J Exp Med* 1998;188:1929-1939
- 43 Kjaer TM, Frokiaer H. Induction of oral tolerance with microdoses of ovomucoid depends on the length of the feeding period. *Scand J Immunol* 2002;55:359-365
- 44 Kumar V, Sercarz E. An integrative model of regulation centered on recognition of TCR peptide/MHC complexes. *Immunol Rev* 2001;182:113-121
- 45 Mombaerts P, Mizoguchi E, Grusby MJ, Glimcher LH, Bhan AK, Tonegawa S. Spontaneous development of inflammatory bowel disease in T cell receptor mutant mice. *Cell* 1993;75:274-282
- 46 Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol* 2002;2:116-126
- 47 De Becker G, Moulin V, Tieleman F, De Mattia F, Urbain J, Leo O, Moser M. Regulation of T helper cell differentiation in vivo by soluble and membrane proteins provided by antigen-presenting cells. *Eur J Immunol* 1998;28:3161-3171
- 48 Freeman GJ, Boussiotis VA, Anumanthan A, Bernstein GM, Ke XY, Rennert PD, Gray GS, Gribben JG, Nadler LM. B7-1 and B7-2 do not deliver identical costimulatory signals, since B7-2 but not B7-1 preferentially costimulates the initial production of IL-4. *Immunity* 1995;2:523-532
- 49 Glimcher LH, Murphy KM. Lineage commitment in the immune system: the T helper lymphocyte grows up. *Genes Dev* 2000;14:1693-1711
- 50 Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm. *Immunol Today* 1997;18:263-266
- 51 Wills-Karp M. Immunologic basis of antigen-induced airway hyperresponsiveness. *Annu Rev Immunol* 1999;17:255-281
- 52 Szabo SJ, Jacobson NG, Dighe AS, Gubler U, Murphy KM. Developmental commitment to the Th2 lineage by extinction of IL-12 signaling. *Immunity* 1995;2:665-675
- 53 Szabo SJ, Kim ST, Costa GL, Zhang X, Fathman CG, Glimcher LH. A novel transcription factor, T-bet, directs Th1 lineage commitment. *Cell* 2000;100:655-669
- 54 Szabo SJ, Sullivan BM, Stemmann C, Satoskar AR, Sleckman BP, Glimcher LH. Distinct effects of T-bet in TH1 lineage commitment and IFN-gamma production in CD4 and CD8 T cells. *Science* 2002;295:338-342
- 55 Neurath MF, Weigmann B, Finotto S, Glickman J, Nieuwenhuis E, Iijima H, Mizoguchi A, Mizoguchi E, Mudter J, Galle PR, Bhan A, Autschbach F, Sullivan BM, Szabo SJ, Glimcher LH, Blumberg RS. The transcription factor T-bet regulates mucosal T cell activation in experimental colitis and Crohn's disease. *J Exp Med* 2002;195:1129-1143
- 56 Li B, Tournier C, Davis RJ, Flavell RA. Regulation of IL-4 expression by the transcription factor JunB during T helper cell differentiation. *EMBO J* 1999;18:420-432
- 57 Kurata H, Lee HJ, O'Garra A, Arai N. Ectopic expression of activated Stat6 induces the expression of Th2-specific cytokines and transcription factors in developing Th1 cells. *Immunity* 1999;11:677-688

- 58 Rengarajan J, Tang B, Glimcher LH. NFATc2 and NFATc3 regulate T(H)2 differentiation and modulate TCR-responsive-ness of naive T(H) cells. *Nat Immunol* 2002;3:48-54
- 59 Ho IC, Hodge MR, Rooney JW, Glimcher LH. The proto-oncogene c-maf is responsible for tissue-specific expression of interleukin-4. *Cell* 1996;85:973-983
- 60 Zheng W, Flavell RA. The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells. *Cell* 1997;89:587-596
- 61 Ouyang W, Lohning M, Gao Z, Assenmacher M, Ranganath S, Radbruch A, Murphy KM. Stat6-independent GATA-3 autoactivation directs IL-4-independent Th2 development and commitment. *Immunity* 2000;12:27-37
- 62 Pulendran B, Banchereau J, Maraskovsky E, Maliszewski C. Modulating the immune response with dendritic cells and their growth factors. *Trends Immunol* 2001;22:41-47
- 63 Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245-252
- 64 Cella M, Jarrossay D, Facchetti F, Alebardi O, Nakajima H, Lanzavecchia A, Colonna M. Plasmacytoid monocytes migrate to inflamed lymph nodes and produce large amounts of type I interferon. *Nat Med* 1999;5:919-923
- 65 Moser M, Murphy KM. Dendritic cell regulation of TH1-TH2 development. *Nat Immunol* 2000;1:199-205
- 66 Pulendran B, Banchereau J, Burkeholder S, Kraus E, Guinet E, Chalouni C, Caron D, Maliszewski C, Davoust J, Fay J, Palucka K. Flt3-ligand and granulocyte colony-stimulating factor mobilize distinct human dendritic cell subsets in vivo. *J Immunol* 2000;165:566-572
- 67 Arpinati M, Green CL, Heimfeld S, Heuser JE, Anasetti C. Granulocyte-colony stimulating factor mobilizes T helper 2-inducing dendritic cells. *Blood* 2000;95:2484-2490
- 68 Akbari O, DeKruyff RH, Umetsu DT. Pulmonary dendritic cells producing IL-10 mediate tolerance induced by respiratory exposure to antigen. *Nat Immunol* 2001;2:725-731
- 69 Jameson SC. Maintaining the norm: T-cell homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2002;2:547-556
- 70 Romagnoli P, Hudrisier D, van Meerwijk JP. Preferential recognition of self antigens despite normal thymic deletion of CD4 (+)CD25(+) regulatory T cells. *J Immunol* 2002;168:1644-1648
- 71 Yan J, Mamula MJ. Autoreactive T cells revealed in the normal repertoire: escape from negative selection and peripheral tolerance. *J Immunol* 2002;168:3188-3194
- 72 Leng Q, Bentwich Z. Beyond self and nonself: fuzzy recognition of the immune system. *Scand J Immunol* 2002;56:224-232
- 73 Zheng CQ, Hu GZ, Zeng ZS, Lin LJ, Gu GG. Progress in searching for susceptibility gene for inflammatory bowel disease by positional cloning. *World J Gastroenterol* 2003;9:1646-1656
- 74 Fuss IJ, Neurath M, Boirivant M, Klein JS, de la Motte C, Strong SA, Fiocchi C, Strober W. Disparate CD4⁺ lamina propria (LP) lymphokine secretion profiles in inflammatory bowel disease. Crohn's disease LP cells manifest increased secretion of IFN- γ , whereas ulcerative colitis LP cells manifest increased secretion of IL-5. *J Immunol* 1996;157:1261-1270
- 75 Mariani P, Bachetoni A, D'Alessandro M, Lomanto D, Mazzocchi P, Speranza V. Effector Th-1 cells with cytotoxic function in the intestinal lamina propria of patients with Crohn's disease. *Dig Dis Sci* 2000;45:2029-2035
- 76 Kosiewicz MM, Nast CC, Krishnan A, Rivera-Nieves J, Moskaluk CA, Matsumoto S, Kozaiwa K, Cominelli F. Th1-type responses mediate spontaneous ileitis in a novel murine model of Crohn's disease. *J Clin Invest* 2001;107:695-702
- 77 Davidson NJ, Leach MW, Fort MM, Thompson-Snipes L, Kuhn R, Muller W, Berg DJ, Rennick DM. T helper cell 1-type CD4⁺ T cells, but not B cells, mediate colitis in interleukin 10-deficient mice. *J Exp Med* 1996;184:241-251
- 78 Simpson SJ, Mizoguchi E, Allen D, Bhan AK, Terhorst C. Evidence that CD4⁺, but not CD8⁺ T cells are responsible for murine interleukin-2-deficient colitis. *Eur J Immunol* 1995;25:2618-2625
- 79 Rogler G, Andus T. Cytokines in inflammatory bowel disease. *World J Surg* 1998;22:382-389
- 80 Liu Z, Colpaert S, D'Haens GR, Kasran A, de Boer M, Rutgeerts P, Geboes K, Ceuppens JL. Hyperexpression of CD40 ligand (CD154) in inflammatory bowel disease and its contribution to pathogenic cytokine production. *J Immunol* 1999;163:4049-4057
- 81 Rogler G, Hausmann M, Spottl T, Vogl D, Aschenbrenner E, Andus T, Falk W, Scholmerich J, Gross V. T-cell co-stimulatory molecules are upregulated on intestinal macrophages from inflammatory bowel disease mucosa. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999;11:1105-1111
- 82 Souza HS, Elia CC, Spencer J, MacDonald TT. Expression of lymphocyte-endothelial receptor-ligand pairs, alpha4beta7/MadCAM-1 and OX40/OX40 ligand in the colon and jejunum of patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 1999;45:856-863
- 83 Liu Z, Geboes K, Colpaert S, Overbergh L, Mathieu C, Heremans H, de Boer M, Boon L, D'Haens G, Rutgeerts P, Ceuppens JL. Prevention of experimental colitis in SCID mice reconstituted with CD45RBhigh CD4⁺ T cells by blocking the CD40-CD154 interactions. *J Immunol* 2000;164:6005-6014
- 84 Stuber E, Buschenfeld A, Luttges J, Von Freier A, Arendt T, Folsch UR. The expression of OX40 in immunologically mediated diseases of the gastrointestinal tract (celiac disease, Crohn's disease, ulcerative colitis). *Eur J Clin Invest* 2000;30:594-599
- 85 Neurath MF, Pettersson S, Meyer zum Buschenfelde KH, Strober W. Local administration of antisense phosphorothioate oligonucleotides to the p65 subunit of NF- κ B abrogates established experimental colitis in mice. *Nat Med* 1996;2:998-1004
- 86 Khan WI, Blennerhasset PA, Varghese AK, Chowdhury SK, Omsted P, Deng Y, Collins SM. Intestinal nematode infection ameliorates experimental colitis in mice. *Infect Immun* 2002;70:5931-5937
- 87 Hogaboam CM, Vallance BA, Kumar A, Addison CL, Graham FL, Gauldie J, Collins SM. Therapeutic effects of interleukin-4 gene transfer in experimental inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 1997;100:2766-2776
- 88 Singh B, Read S, Asseman C, Malmstrom V, Mottet C, Stephens LA, Stepankova R, Tlaskalova H, Powrie F. Control of intestinal inflammation by regulatory T cells. *Immunol Rev* 2001;182:190-200
- 89 Groux H, Powrie F. Regulatory T cells and inflammatory bowel disease. *Immunol Today* 1999;20:442-445
- 90 Strobel S. Immunity induced after a feed of antigen during early life: oral tolerance v. sensitisation. *Proc Nutr Soc* 2001;60:437-442
- 91 Guarner F, Casellas F, Borruel N, Antolin M, Videla S, Vilaseca J, Malagelada JR. Role of microecology in chronic inflammatory bowel diseases. *Eur J Clin Nutr* 2002;56(Suppl 4):S34-38
- 92 Lindsay JO, Ciesielski CJ, Scheinin T, Brennan FM, Hodgson HJ. Local delivery of adenoviral vectors encoding murine interleukin 10 induces colonic interleukin 10 production and is therapeutic for murine colitis. *Gut* 2003;52:363-369
- 93 Duchmann R, Schmitt E, Knolle P, Meyer zum Buschenfelde KH, Neurath M. Tolerance towards resident intestinal flora in mice is abrogated in experimental colitis and restored by treatment with interleukin-10 or antibodies to interleukin-12. *Eur J Immunol* 1996;26:934-938
- 94 Gotsman I, Shlomai A, Alper R, Rabbani E, Engelhardt D, Ilan Y. Amelioration of immune-mediated experimental colitis: tolerance induction in the presence of preexisting immunity and surrogate antigen bystander effect. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297:926-932
- 95 Tilg H, van Montfrans C, van den Ende A, Kaser A, van Deventer SJ, Schreiber S, Gregor M, Ludwiczek O, Rutgeerts P, Gasche C, Koningsberger JC, Abreu L, Kuhn I, Cohard M, LeBeaut A, Grint P, Weiss G. Treatment of Crohn's disease with recombinant human interleukin 10 induces the proinflammatory cytokine interferon gamma. *Gut* 2002;50:191-195
- 96 Schreiber S, Heinig T, Thiele HG, Raedler A. Immunoregulatory role of interleukin 10 in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1995;108:1434-1444
- 97 Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10218 ulcerative colitis cases in China. *World J Gastroenterol* 2002;8:158-161
- 98 Taams LS, Smith J, Rustin MH, Salmon M, Poulter LW, Akbar AN. Human anergic/suppressive CD4(+)CD25(+) T cells: a highly differentiated and apoptosis-prone population. *Eur J Immunol* 2001;31:1122-1131