

弓形虫感染对宿主 T 细胞功能的影响

王燕娟 曹建平 熊彦红 沈玉娟*

【摘要】 刚地弓形虫病对人类健康和畜牧业的发展危害严重。宿主 T 细胞介导的细胞及体液免疫在抗弓形虫感染中发挥着重要的作用。大量研究表明弓形虫感染能够通过凋亡或衰竭等方式导致宿主 T 细胞数量减少、功能受损,是弓形虫逃避宿主免疫的重要表现。该文就弓形虫感染对宿主 T 细胞的影响做一综述。

【关键词】 弓形虫; T 细胞; 凋亡

Influence of *Toxoplasma gondii* infection on T cell function of host Wang Yanjuan, Cao Jianping, Xiong Yanhong, Shen Yujuan*. National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, Ministry of Health, WHO Collaborating Center for Tropical Diseases, Shanghai 200025, China

*Corresponding author: Shen Yujuan, Email: amyshyj12@163.com

Supported by Shanghai Municipal Health Bureau (20124Y078), National Natural Science Fund (81202301) and Chinese Special Program for Scientific Research of Public Health (201502021)

【Abstract】 Toxoplasmosis has caused serious harm to human health and the development of animal husbandry. T cell mediated cellular and humoral immunity plays important roles in the process of anti-*Toxoplasma gondii* infection. However, lots of research suggested that as an important way to evade the host immune system, the infection of *Toxoplasma gondii* could trigger reduced quantity and impaired function of the host T cells through T cell apoptosis or exhaustion. This article reviews the impairment of host T cells during *Toxoplasma gondii* infection.

【Key words】 *Toxoplasma gondii*; T cell; Apoptosis

刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 简称弓形虫,是一种分布广泛、能感染人及多种温血动物的机会性专性细胞内寄生原虫,对人类健康和畜牧业的发展造成严重威胁。宿主对抗其感染的免疫反应主要依赖于 T 细胞的直接杀伤或者诱导吞噬细胞激活来杀死胞内的弓形虫^[1-2]。在长期的进化过程中,胞内弓形虫也进化出了各种逃避 T 细胞免疫的策略,因此宿主在感染初期强大的 T 细胞反应并不能完全清除弓形虫。了解弓形虫在感染过程中如何使宿主 T 细胞功能逐渐减弱甚至丧失,将为揭示其致病机理以及临床治疗提供重要线索,本文就

弓形虫感染对宿主 T 细胞免疫功能的影响进行综述。

1 弓形虫感染中宿主 T 细胞数量及功能变化

细胞介导的免疫应答在抗弓形虫感染中发挥着重要作用,包括 T 淋巴细胞、自然杀伤细胞、巨噬细胞等。细胞免疫与疾病的转归密切相关。弓形虫感染首先激活天然性免疫应答中的自然杀伤细胞和巨噬细胞。自然杀伤细胞通过分泌白细胞介素-2 (interleukin-2, IL-2) 和 γ 干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 破坏和溶解靶细胞,巨噬细胞主要通过活化后产生肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、IL-10、IL-12 等细胞因子发挥作用。随着感染进程的发展,特异性 T 细胞的比例逐渐增高^[3]。T 细胞按其分子表型和功能的不同,可分为 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞。其中效应性 CD8⁺ T 细胞在弓形虫急性感染期通过分泌细胞因子及其细胞毒性作用在抗弓形虫感染中发挥主要作用^[4]。CD4⁺ T 细胞根据活化后分泌细胞因子的不同主要分为 Th1 和 Th2 细胞。

DOI: 10.3760/ema.j.issn.1673-4122.2015.06.015

基金项目:上海市卫生局青年科研项目(20124Y078);国家自然科学基金(81202301);国家卫生行业科研专项(201502021)

作者单位:200025 上海,中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所,卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室,世界卫生组织热带病合作中心

*通信作者:沈玉娟, Email: amyshyj12@163.com

感染弓形虫的BALB/c小鼠,在急性感染期以Th1细胞应答为主,之后以Th2细胞应答为主^[5]。此外还包括不同于Th1和Th2细胞的调节性T细胞等。

国内外研究均表明弓形虫感染,尤其是在感染的急性期,宿主T细胞的数量及功能都会受到严重影响。国内外研究普遍认为弓形虫感染会造成宿主T细胞群总数量减少,而对于两个主要T细胞亚群数量的具体消长存在分歧。Liesenfeld等^[6]发现小鼠感染弓形虫后小肠派尔氏淋巴结中T细胞急剧减少,进一步的研究表明CD4⁺T和CD8⁺T细胞均减少^[7]。有其它研究支持这一结果^[8]。王春莉等^[9]用流式细胞术检测感染弓形虫大鼠外周血中T细胞动态变化,结果显示CD8⁺T细胞亚群水平在感染弓形虫后3 d、7 d、14 d和21 d时均降低,而CD4⁺T细胞亚群水平在整个感染过程中并无显著变化;CD4/CD8⁺比值升高。也有国外学者在小鼠中发现类似的结果^[10]。而陈炳兰等^[11]在弓形虫感染孕18 d孕鼠中发现感染第4天小鼠外周血CD4⁺T细胞增多,CD8⁺T细胞亚群无变化,CD4/CD8⁺比值的升高。研究普遍认为弓形虫感染破坏宿主T细胞功能。Wei等^[12]发现体外用弓形虫感染人髓样树突状细胞能够导致T细胞激活及增殖障碍,最终使T细胞功能受损,并且导致T细胞接触性凋亡。陈彩华等^[13]对弓形虫感染兔的淋巴细胞转化率测定结果显示在弓形虫感染急性期及慢性早期T细胞转化率均显著低于对照组,提示弓形虫感染导致T细胞免疫反应降低,且结果提示该现象同弓形虫的急剧增殖有关。周永华,王春莉等^[14-15]研究还发现感染弓形虫晚期大鼠外周血中IL-4显著上升,提示发挥主要清除作用的细胞因子IFN- γ 的功能受到抑制。

2 弓形虫感染影响宿主T细胞数量及功能变化的机制

大量研究表明,胞内寄生原虫包括弓形虫能够诱导所寄生的细胞产生对抗凋亡的能力^[16-18],从而保证寄生虫顺利完成生活史。而另一方面,弓形虫的感染能够导致宿主免疫细胞功能受损或凋亡,尤其是发挥重要作用的T细胞,这样有利于弓形虫感染中逃避宿主的免疫攻击,也有研究认为这是宿主为了避免自身局部炎症反应加剧而做出的清除活化T淋巴细胞的反应^[19],说明弓形虫感染对宿主免疫机制调控影响具多元性和复杂性,对这方面的研究将有利于阐明弓形虫的免疫逃避现象以及寄生虫—宿主关系。

2.1 弓形虫感染导致宿主T细胞凋亡

弓形虫感染免疫力正常的宿主之后会快速激起宿主机体的免疫应答,其中细胞免疫应答尤为重要^[20],之后宿主免疫便会受到一段时间的抑制,病程也进入潜伏期。大量研究认为弓形虫感染中宿主发病早期产生的免疫抑制是通过T细胞失活及凋亡的方式实现的^[7,21]。

T细胞的凋亡主要是由于受到抗原持续刺激而引起的活化诱导凋亡(activation-induced cell death, AICD)^[1,22],受到多种凋亡受体和配体的调控,信号传递机制复杂。其中Fas及其配体FasL之间的相互作用在弓形虫诱导宿主细胞凋亡中起到至关重要的作用,而诱发该凋亡途径外因是细胞因子,如IFN- γ 和IL-2等。Liesenfeld等^[7]发现在感染弓形虫的小鼠模型中,IFN- γ 能够诱导CD4⁺和CD8⁺T细胞通过Fas途径凋亡。Begum等^[8]发现抗体阻断IFN- γ 后,CD4⁺T细胞的凋亡被阻止,而CD8⁺T细胞凋亡受到的影响较小。Angeloni等^[23]发现弓形虫诱导宿主细胞Fas的表达以及由此引发的凋亡现象受促炎细胞因子IFN- γ 和IL-12的调节。此外,调节性T细胞在弓形虫感染中的凋亡现象也很常见。Salinas等^[24]认为弓形虫感染急性期T细胞数量减少是由于调节性T细胞同增殖的T细胞竞争IL-2导致后者缺乏生长因子而凋亡的。张改等^[25]也发现弓形虫培养上清体外能够诱导CD4⁺和CD25⁺T细胞的凋亡并减弱其抑制功能。

2.2 弓形虫慢性感染导致T细胞功能衰竭

胞内病原引起宿主强烈免疫反应的一个重要特征是引起特异性T细胞快速增殖且分泌多种功能的细胞因子,尤其是CD8⁺T细胞群^[26]。CD8⁺T细胞在弓形虫感染免疫中作用极为重要。在弓形虫感染小鼠慢性期疾病模型中,敲除CD8⁺T细胞对小鼠疾病程度以及存活率带来的影响远大于敲除CD4⁺T细胞^[27]。T细胞功能衰竭是免疫耐受的一种,指的是T细胞逐渐失去功能,表现为一种不同于正常效应T细胞和记忆T细胞的特殊分化状态^[28]。大量研究表明包括弓形虫在内的寄生原虫感染能够引起T细胞功能衰竭,尤其是CD8⁺T细胞^[29-30]。Bhadra等^[31-33]研究发现,慢性弓形虫感染过程中,感染弓形虫的C57BL/6小鼠体内的CD8⁺T细胞功能逐渐衰竭,将急性弓形虫感染宿主的CD8⁺T细胞过继移植入慢性弓形虫感染宿主体内后,虽能暂时限制包囊的破裂,但不能恢复CD8⁺T细胞的功能,提示慢性弓

形虫感染过程中记忆性 CD8⁺ T 细胞的功能衰竭。研究者认为这是弓形虫在宿主体内大量繁殖并最终导致宿主死亡的重要原因之一。

弓形虫感染中 CD8⁺ T 细胞衰竭的原因有内外两方面: 外部原因包括持续的抗原刺激以及受到抑制性炎症细胞的影响; 内部原因包括 T 细胞本身抑制性受体的增高和转录因子谱的改变。研究表明弓形虫感染慢性期宿主的 CD8⁺ T 细胞高表达程序性死亡分子-1 (programmed death-1, PD-1) 和 T 细胞免疫球蛋白及黏蛋白结构域分子-3 (T-cell immunoglobulin domain and mucin domain molecule-3, Tim-3) 等抑制性受体^[32, 34]。在弓形虫感染动物模型中阻断其受体 PD-L1 能够恢复 CD8⁺ T 细胞增殖及分泌细胞因子的能力^[26], 在病毒等其它病原模型中已证明同时阻断 CD8⁺ T 表面这两种受体比单独阻断一种受体更能遏制疾病的发展^[35, 36], 提示这些受体之间的协同表达加快了 CD8⁺ T 细胞的衰竭。也有学者认为在艾滋病混合感染弓形虫的病例中, CD8⁺ T 细胞衰竭应主要归因于前者的潜伏感染再活化^[37]。

3 结 语

弓形虫病危害巨大且目前尚无理想的治疗药物^[38], 全面了解弓形虫感染的致病机理将为寻找预防和控制感染的有效途径提供理论依据和指导。T 细胞介导的免疫应答在弓形虫感染中发挥着重要的作用^[39-40]。阐明 T 细胞在弓形虫感染中的功能受损伤的机制, 有助于设计针对性的治疗靶点来恢复 T 细胞的功能, 或者明确其分化调控机制后针对各项因素进行干预, 都将有可能阻止弓形虫感染进入慢性炎症期, 为更有效地防治弓形虫感染提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Rodrigues V, Cordeiro-da-Silva A, Laforge M, et al. Impairment of T cell function in parasitic infections[J]. PLoS Negl Trop Dis, 2014, 8(2): e2567.
- [2] 于恩庶. 弓形虫病学[M]. 2版. 福州: 福建科学技术出版社, 1992: 61-88.
- [3] Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Toxoplasma gondii*. Principles and practice of infectious diseases[M]. Fifth Edition. Beijing: Science Press, 2001: 2867.
- [4] Gigley JP, Bhadra R, Khan IA. CD8 T cells and *Toxoplasma gondii*: a new paradigm[J]. J Parasitol Res, 2011, 2011: 243796.
- [5] 李永念, 包怀恩. BALB/c小鼠感染弓形虫后Th1/Th2免疫漂移的实验研究[J]. 中国免疫学杂志, 2009, 3(25): 209-212.
- [6] Liesenfeld O, Kosek J, Remington JS, et al. Association of CD4⁺ T cell-dependent, interferon-gamma-mediated necrosis of the small intestine with genetic susceptibility of mice to peroral infection with *Toxoplasma gondii*[J]. J Exp Med, 1996, 184(2): 597-607.
- [7] Liesenfeld O, Kosek JC, Suzuki Y. Gamma interferon induces Fas-dependent apoptosis of Peyer's patch T cells in mice following peroral infection with *Toxoplasma gondii*[J]. Infect Immun, 1997, 65(11): 4682-4699.
- [8] Begum-Haque S, Haque A, Kasper LH. Apoptosis in *Toxoplasma gondii* activated T cells: the role of IFN gamma in enhanced alteration of Bcl-2 expression and mitochondrial membrane potential[J]. Microb Pathog, 2009, 47(5): 281-288.
- [9] 王春莉, 周永华, 刘健虎. 弓形虫感染大鼠外周血T细胞亚群动态变化[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21(7): 605-607.
- [10] Yano AI, Aosai F, Ohta M, et al. Antigen presentation by *Toxoplasma gondii*-infected cells to CD4⁺ proliferative T cells and CD8⁺ cytotoxic cells[J]. J Parasitol, 1989, 75(3): 411-416.
- [11] 陈炳兰, 王玲, 王海琦. 弓形虫感染孕鼠T淋巴细胞亚群在外周血及蜕膜变化的研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2003, 19(2): 78-80.
- [12] Wei S, Marches F, Borvak J, et al. *Toxoplasma gondii*-infected human myeloid dendritic cells induce T-lymphocyte dysfunction and contact-dependent apoptosis[J]. Infect Immun, 2002, 70(4): 1750-1760.
- [13] 陈彩华, 傅革峨, 郑志国, 等. 弓形虫感染兔T淋巴细胞免疫反应的初步观察[J]. 中国人兽共患病杂志, 1991, 7(5): 28-29.
- [14] 周永华, 范红结, 王春莉, 等. 弓形虫感染对大鼠T细胞免疫功能的影响[J]. 江苏农业学报, 2007, 23(4): 322-325.
- [15] 王春莉, 周永华, 刘健虎. 弓形虫感染大鼠外周血T淋巴细胞亚群及IFN- γ 、TNF- α 、IL-4动态变化[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(2): 122-124.
- [16] Hippe D, Lytovchenko O, Schmitz I, et al. Fas/CD95-mediated apoptosis of type II cells is blocked by *Toxoplasma gondii* primarily via interference with the mitochondrial amplification loop[J]. Infect Immun, 2008, 76(7): 2905-2912.
- [17] Yamada T, Tomita T, Weiss LM, et al. *Toxoplasma gondii* inhibits granzyme B-mediated apoptosis by the inhibition of granzyme B function in host cells[J]. Int J Parasitol, 2011, 41(6): 595-607.
- [18] Blader, Koshy AA. *Toxoplasma gondii* development of its replicative niche: in its host cell and beyond[J]. Eukaryot Cell, 2014, 13(8): 965-976.
- [19] Hu MS, Schwartzman JD, Yeaman GR, et al. Fas-FasL interaction involved in pathogenesis of ocular toxoplasmosis in mice[J]. Infect Immun, 1999, 67(2): 928-935.
- [20] Montoya, JG, JS Remington. *Toxoplasmic chorioretinitis* in the setting of acute acquired toxoplasmosis[J]. Clin Infect Dis, 1996, 23(2): 277-282.
- [21] 朱勇, 杨秋林. 弓形虫与宿主细胞相互作用研究进展[J]. 微生物学免疫学进展, 2014, 10(42): 77-80.
- [22] 陈雪晴. T细胞的激活和凋亡信号的识别与传递机制[J]. 天津中医药, 2012, 8(29): 413-416.
- [23] Angeloni MB, Guirelli PM, Franco PS, et al. Differential apoptosis

- in BeWo cells after infection with highly (RH) or moderately (ME49) virulent strains of *Toxoplasma gondii* is related to the cytokine profile secreted, the death receptor Fas expression and phosphorylated ERK1/2 expression[J]. *Placenta*, 2013, 34(11): 973-982.
- [24] Salinas N, Olguin JE, Castellanos C, et al. T cell suppression in vitro during *Toxoplasma gondii* infection is the result of IL-2 competition between Tregs and T cells leading to death of proliferating T cells[J]. *Scand J Immunol*, 2014, 79(1): 1-11.
- [25] 张改, 葛以跃, 吴江平, 等. 弓形虫培养上清体外对 CD4⁺、CD25⁺ T 细胞的影响[J]. *中国血吸虫病防治杂志*, 2007, 19(3): 196-199.
- [26] Gigley JP, Bhadra R, Moretto MM, et al. T cell exhaustion in protozoan disease[J]. *Trends Parasitol*, 2012, 28(9): 377-384.
- [27] Gazzinelli R, Xu Y, Hieny S, et al. Simultaneous depletion of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes is required to reactivate chronic infection with *Toxoplasma gondii*[J]. *J Immunol*, 1992, 149(1): 175-180.
- [28] 林凯龙, 朱波. T 细胞衰竭及其分化调控机制[J]. *中国免疫学杂志*, 2012, 28(9): 858-861.
- [29] Joshi T, Rodriguez S, Perovic V, et al. B7-H1 blockade increases survival of dysfunctional CD8⁺ T cells and confers protection against *Leishmania donovani* infections[J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(5): e1000431.
- [30] Butler NS, Moebius J, Pewe LL, et al. Therapeutic blockade of PD-L1 and LAG-3 rapidly clears established blood stage *Plasmodium* infection[J]. *Nat Immunol*, 2011, 13(2): 188-195.
- [31] Bhadra R, Gigley JP, Weiss LM, et al. Control of *Toxoplasma* reactivation by rescue of dysfunctional CD8⁺ T cell response via PD-1-PDL-1 blockade[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(22): 9196-9201.
- [32] Bhadra R, Gigley JP, Khan IA. PD-1-mediated attrition of polyfunctional memory CD8⁺ T cells in chronic *Toxoplasma* infection[J]. *J Infect Dis*, 2012, 206(1): 125-134.
- [33] Bhadra R, Cobb DA, Khan IA. Donor CD8⁺ T cells prevent *Toxoplasma gondii* de-encystation but fail to rescue the exhausted endogenous CD8⁺ T cell population[J]. *Infect Immun*, 2013, 81(9): 3414-3325.
- [34] Wu B, Huang B, Chen Y, et al. Upregulated expression of Tim-3 involved in the process of toxoplasmic encephalitis in mouse model[J]. *Parasitol Res*, 2013, 112(7): 2511-2521.
- [35] Sakuishi K, Apetoh L, Sullivan JM, et al. Targeting Tim-3 and PD-1 pathways to reverse T cell exhaustion and restore anti-tumor immunity[J]. *J Exp Med*, 2010, 207(10): 2187-2194.
- [36] Fourcade J, Sun Z, Benallaoua M, et al. Upregulation of Tim-3 and PD-1 expression is associated with tumor antigen-specific CD8⁺ T cell dysfunction in melanoma patients[J]. *J Exp Med*, 2010, 7(10): 2175-2186.
- [37] Długońska H, Grzybowski MM. Functional exhaustion of T lymphocytes in chronic toxoplasmosis[J]. *Ann Parasitol*, 2013, 59(3): 109-112.
- [38] 詹希美. 人体寄生虫学[M]. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 86-98.
- [39] 吴斌 吕芳丽. CD8⁺ T 细胞免疫应答在刚地弓形虫感染免疫中的功能研究进展[J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2014, 32(2): 143-147.
- [40] 刘秀华, 边婷婷, 王新光, 等. CD4⁺ T 细胞亚群在弓形虫感染中的作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(4): 572-574.

(收稿日期: 2015-09-10)

(本文编辑: 孙雅雯, 陈勤)