

# 巨噬细胞极化在结核病中的作用研究进展

于佳佳 唐神结

首都医科大学附属北京胸科医院,北京市结核病胸部肿瘤研究所 结核病多学科诊疗中心,北京 101149

通信作者:唐神结,Email:tangsj1106@sina.com

**【摘要】** 结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染引起的一种慢性传染性疾病。巨噬细胞作为抵抗 MTB 主要的宿主细胞,在机体先天性和获得性免疫应答中发挥至关重要的作用,在不同诱导因素的刺激下,巨噬细胞可分化为相应的表型,即 M1 型和 M2 型巨噬细胞,并发挥不同的作用。对巨噬细胞极化信号通路及 M1 和 M2 型细胞之间动态平衡的深入研究,为探讨结核病的发病机制开辟了新的途径。由于巨噬细胞极化在 MTB 感染、结核性肉芽肿形成和结核病转归中的重要作用,对其深入研究有助于新型结核疫苗和免疫制剂的研发,为结核病预防和治疗奠定重要的理论基础。

**【关键词】** 分枝杆菌;结核;巨噬细胞;极化;结核性肉芽肿

**基金项目:**国家“十二五”科技重大专项(2015ZX10003001)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2019.03.014

## Advances in the role of macrophage polarization in tuberculosis

Yu Jiajia, Tang Shenjie

Multidisciplinary Diagnosis and Treatment Center of Tuberculosis, Beijing Chest Hospital, Capital Medical University, Beijing Tuberculosis and Thoracic Tumor Research Institute, Beijing 101149, China

Corresponding author: Tang Shenjie, Email:tangsj1106@vip.sina.com

**【Abstract】** Tuberculosis is a kind of chronic infectious disease caused by *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Macrophages, as the main host cells against MTB, play a crucial role in the natural and acquired immune response of the body. Under the stimulation of different inducing factors, macrophages can be polarized to M1-type macrophages and M2-type macrophages, which play different functions in the progression of tuberculosis. Further studies on the polarization signaling pathway of macrophages and dynamic balance between M1 and M2-type macrophages cells have provide a new way to explore the pathogenesis of tuberculosis. In addition, due to the importance of macrophage polarization in the development of MTB infection, the formation of tuberculous granuloma and prognosis of tuberculosis, the in-depth study on macrophages polarization will contribute to the development of new tuberculosis vaccines and immune agents, and lay an important theoretical foundation for the prevention and treatment of tuberculosis.

**【Key words】** *Mycobacterium tuberculosis*; Macrophage polarization; Tuberculous granuloma

**Fund program:** National “12th Five-year” Plan Science and Technology Major Project (2015ZX10003001)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2019.03.014

结核病是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染引起的一种慢性传染性疾病,

截止到目前仍然是严重威胁人类健康的主要传染性疾病。根据世界卫生组织 2018 年结核病报告,估算 2017 年全球新发结核病例 1 000 万,死亡病例 106 万,是全球十大死亡原因之一,在单一传染病居首位<sup>[1]</sup>,结核病的防治仍面临巨大的挑战。巨噬细胞

作为机体的一种免疫细胞,在机体天然免疫和获得性免疫中发挥巨大作用<sup>[2]</sup>,是抵御病原体入侵机体的第一道防线,可在众多感染性疾病中维持机体稳态和抵抗感染,其中包含结核病。随着细胞与分子生物学的不断发展,人们逐渐认识到巨噬细胞是一种具有高度可塑性的复杂群体<sup>[3]</sup>,可通过模式识别受体(Pattern-recognition receptor, PRR)在先天性免疫系统参与的免疫应答中发挥多种作用。巨噬细胞的功能具有双重性,在宿主保护与组织损伤之间保持良好的平衡。巨噬细胞吞噬、清除和分泌有助于先天性和适应性的抗感染防御<sup>[4]</sup>。

巨噬细胞作为抵抗 MTB 主要的宿主细胞,在抗结核感染中发挥着至关重要的作用。MTB 感染巨噬细胞时,成熟的巨噬细胞在不同因素诱导下分化成不同表型的亚细胞型,其分布、表型特征、功能、表达的表面因子、分泌的细胞因子均不同,最终导致的感染结局不同。巨噬细胞可以吞噬和杀伤 MTB,也可作为抗原提呈细胞启动获得性免疫应答;最为重要的是其作为结核性肉芽肿(MTB 与免疫细胞相互作用的最直接部位)的主要细胞群参与 MTB 的转归。因此,更好地了解 MTB 感染过程中巨噬细胞的极化,有助于我们深入了解 MTB 致病的机制<sup>[5]</sup>。本文就巨噬细胞极化在结核病中的作用研究进展进行综述。

## 1 巨噬细胞极化

巨噬细胞经过不同的诱导因素刺激可分化为不同表型,并发挥不同功能,这一现象称作巨噬细胞极化。巨噬细胞极化同 MTB 感染进程及结核发病密切相关<sup>[2]</sup>。活化巨噬细胞的功能依赖于包括 PRRs 在内的多种信号通路的调控,导致巨噬细胞极化方向不同<sup>[6]</sup>。在不同的刺激下,活化的巨噬细胞可能分化成经典激活巨噬细胞(M1 型)和选择性激活巨噬细胞(M2 型)两个表型<sup>[7]</sup>。

经典激活途径受抗原特异性 T 细胞分泌的干扰素- $\gamma$  以及细菌表面脂多糖(LPS)所诱导,产生的巨噬细胞称为 M1 型巨噬细胞,以分泌较高水平促炎细胞因子白细胞介素(IL)-12,及少量 IL-10 为特点,流式细胞术可检测到其表面分子 CD86 的特征性表达。M1 型巨噬细胞在早期 MTB 感染的抵抗中发挥重要作用,能限制 MTB 的生长繁殖,是宿主控制 MTB 感染播散的重要防御屏障<sup>[8]</sup>。M2 型可根据诱导极化的因子不同,进一步分为 M2a、M2b 和 M2c 三亚型<sup>[9]</sup>。M2 型巨噬细胞的激活更主要受 Th2 细

胞分泌的 IL-4、IL-13 等细胞因子调控,分泌抗炎性因子,如 IL-10 及转化生长因子(TGF)- $\beta$  及可溶性 IL-1 受体拮抗剂等,可下调免疫应答、抑制炎症反应及促进组织修复和重塑等<sup>[10]</sup>,常见的 M2 型表面标志有 CD163、CD206、半乳糖型受体及趋化因子 CC 家族(CCL17 和 CCL18)等<sup>[11]</sup>。最近的研究发现,极化巨噬细胞具有明显的代谢表型,这些表型决定了巨噬细胞的活化状态。M1 型巨噬细胞有氧糖酵解增加,M2 型巨噬细胞脂肪酸氧化增加<sup>[12]</sup>。部分研究表明,已经分化的巨噬细胞的表型可发生互相转换。在 MTB 感染从急性向慢性转变的过程中,促炎细胞因子和抗炎细胞因子之间被认为存在一个转换的“开关”。二者之间的平衡作为一种保护机制可以起到阻止过度炎症反应的作用<sup>[13]</sup>。

由此推测,在 M1 型和 M2 型巨噬细胞中也可存在着类似的“开关”的现象,巨噬细胞极化在控制 MTB 感染的过程中,M1 型和 M2 型巨噬细胞可存在一个动态转换机制,促进 MTB 感染从急性向慢性的转变过程;二者之间的动态平衡可作为一种保护机制起到阻止过度炎症反应的作用。类似巨噬细胞极化的“开关”动态转换机制,有利于保护机体在 MTB 感染的抵抗中发挥重要作用。

## 2 巨噬细胞极化与 MTB 感染

巨噬细胞是 MTB 入侵机体后寄生的主要场所,也是抵抗其感染的免疫细胞之一,是机体获得特异性抗结核免疫的第一步。不同类型巨噬细胞在 MTB 感染过程中作用不尽相同。M1 型能限制 MTB 的生长;M2 型则抑制炎症反应,介导病原体免疫逃逸,在某种程度上被认为导致了 MTB 的播散。持续感染 MTB 后可导致 M1/M2 的混合表达<sup>[14]</sup>。如何保持 M1 和 M2 型之间的功能平衡,可作为了解 MTB 感染发病机制新的研究对象。加强 M2 向 M1 方式转变的研究也许能成为治疗结核病的新思路。目前参与巨噬细胞极化的信号通路已被证实的有 JAK、STAT 信号通路,JNK 信号通路,P13K/AKT 信号通路及 Notch 信号通路等。促进 M1 型巨噬细胞反应的重要调节因子是核因子- $\kappa$ B(NF- $\kappa$ B)、IFN 调节因子(IRF)-5、转录因子(AP)-1、信号转导和转录激活因子(STAT)-1;M2 型巨噬细胞反应的关键调节因子是 STAT6、IRF4、组蛋白去甲基化酶(JMJD3)和过氧化物酶体增殖剂激活受体(PPAR)- $\gamma$ 。巨噬细胞在不同情况下表型可出现变化,但控制 M1/M2 极化的分子机制仍未明<sup>[15]</sup>。

**2.1 M1 型极化通路与 MTB 感染** 近年来,有诸多研究显示,通过诱导巨噬细胞的极化方向可调节 MTB 的生长。在病原体感染及出现肿瘤时,脂多糖等通过 Toll 样受体(TLR)-4 或 IL-1 信号激活下游复合物后通过 STAT-1 和 NF- $\kappa$ B 信号通路调节巨噬细胞向 M1 型极化<sup>[16]</sup>。橙皮苷衍生物-12 (HDND-12)通过调节 JAK2/STAT3 通路,至少在一定程度上阻止向 M1 型巨噬细胞极化<sup>[17]</sup>。4-甲氧基龙胆素(4-ML)可以通过抑制 LPS 与 TLR-4 结合,抑制 M1 型巨噬细胞极化<sup>[16]</sup>。Chen 等<sup>[18]</sup>研究发现,Wnt 信号通过诱导 M2 型巨噬细胞分化及下调促炎细胞因子的表达在 MTB 感染中发挥免疫调节作用。Wnt5a 的低表达同感染 MTB 小鼠的肺组织细菌载量及小鼠骨髓来源巨噬细胞(BMDM)呈剂量和时间依赖性。通过动物感染模型发现当 Wnt5a 表达匮乏时,小鼠肺组织或鼠骨髓来源巨噬细胞的促炎细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-12、IL-6)含量明显减少,感染 MTB 的巨噬细胞发生凋亡。在活动性结核患者和健康人群体内,CCL5 在 M1 型巨噬细胞中的表达远高于 M2 型巨噬细胞,这与 CCL5 是活化 NF- $\kappa$ B 的靶基因有关,但也提示 CCL5 在两种巨噬细胞亚型中的作用不同<sup>[19]</sup>。MTB 肝素结合血凝黏附素(HBHA)和早期分泌性靶抗原(ESAT-6)能够调控巨噬细胞功能的活化状态,影响 MTB 感染进程和结局。HBHA 处理 BMDM 细胞后,培养上清液中 IL-6、IL-12、TNF- $\alpha$  表达量明显增加,诱导型一氧化氮合酶(iNOS)和 TNF- $\alpha$  基因表达升高。处理后的 Raw264.7 细胞中 IL-6 分泌量增多,TNF- $\alpha$  表达上调,THP-1 细胞中 C-X-C 趋化因子(CXCL)-10 基因表达水平升高,与 ESAT-6 对巨噬细胞的作用结果一致。HBHA 和 ESAT-6 处理 BMDM 细胞不能增加 M2 极化分子标志精氨酸酶-1(Arg-1)蛋白的表达,但都能诱导 BMDM 细胞和 Raw264.7 细胞 iNOS 生成增加。与野生株感染组相比,MTB H37Rv- $\Delta$ Rv0475 菌株感染 Raw264.7 细胞后,iNOS 蛋白表达水平降低。这都证明了 HBHA 和 ESAT-6 具有促进巨噬细胞 M1 极化的作用<sup>[20]</sup>。此外,还有研究认为内质网应激反应也可显著增强 M1 型巨噬细胞的极化,有效清除胞内 MTB,表明内质网很可能是宿主 M1 型巨噬细胞抵抗 MTB 免疫应答中一个重要的组成部分<sup>[21]</sup>。

**2.2 M2 型极化通路与 MTB 感染** 在对关于 M2 型极化通路与 MTB 感染的研究过程中,Lopes 等<sup>[22]</sup>发现,在 MTB 中,重组结核杆菌 Dnak (Hsp70)可以

通过 IL-10 调节小鼠树突细胞中促炎细胞因子的产生,Dnak 胞外转运依赖的 M2 型巨噬细胞极化不仅依赖 IL-10,还依赖 IL-10R 信号通路,提示巨噬细胞存在自分泌反馈回路。突出了巨噬细胞表型极化的整体复杂性,巨噬细胞表型极化可能更多的取决于细胞所处的微环境,而不是其他因素。IRAK-M 是白细胞介素-1 受体相关激酶(IRAK)家族的一员,作为 TLR 信号通路的负调控因子,在单核细胞和巨噬细胞中特异性表达。感染 MTB 的巨噬细胞和人类肺组织中 IRAK-M 水平升高。IRAK-M 在 MTB 感染过程中主要影响缺氧诱导因子(HIF)-1 和丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号的级联反应。在 MTB 感染过程中,IRAK-M 可改变巨噬细胞极性,促进 MTB 胞内生存,影响宿主 Th1 型免疫,IRAK-M 敲除诱导 M1 型,抑制巨噬细胞 M2 型极化<sup>[23]</sup>。MTB-特异性多肽 E7 可诱导单核-巨噬细胞向 M2 型分化,其作用机制与 PPAR- $\gamma$  涉及的非受体酪氨酸激酶信号转导子和转录激活子信号通路相关<sup>[24]</sup>。Rv1737c [MTB 休眠生存调节剂(DosR)的潜伏相关抗原]在 MTB 感染中诱导免疫抑制。M2 型巨噬细胞还可通过糖酵解和 ERK 通路交互式调控代谢<sup>[25]</sup>。Gao 等<sup>[26]</sup>研究证明了激活 M2 型巨噬细胞在 MTB 感染中诱导 Th2 型-相关免疫应答发病机制的作用,表明 IL-10 和 M2 型巨噬细胞在 DosR 诱导的免疫调节中的作用,提示 Rv1737c 是 MTB 的致病抗原,可能是潜伏感染复发的关键。

以上诸多研究表明,在巨噬细胞极化与 MTB 感染过程中,通过对 M1 型及 M2 型多种信号通路的研究与干预,对不同类型巨噬细胞的极化方向进行诱导,能对 MTB 生长进行调节。具体研究方向可分别从天然免疫及保持 M1 和 M2 型细胞之间功能的平衡着手,将其作为了解 MTB 感染发病机制新的研究对象,也许能成为治疗结核病的一种新思路。

### 3 巨噬细胞极化与结核性肉芽肿形成

结核性肉芽肿的形成被认为是多种免疫细胞在数天至数周内对持续存在或降解不良的抗原产生免疫应答的结果。巨噬细胞和 T 细胞的相互作用是天然免疫和适应性免疫之间联系的关键。单核-巨噬细胞的活化和募集受 Th1 和 Th2 细胞的调控,可分别促进细胞和纤维化的进程。肉芽肿形成后,T 细胞活化下调可能导致 M1 向 M2 转移<sup>[27]</sup>,或由 Th1 向 Th2 为主的表型转变。

巨噬细胞极化状态在调控结核性肉芽肿的形成

和发展中发挥着重要作用, Huang 等<sup>[5]</sup>为研究结核性肉芽肿形成过程中巨噬细胞极化序列, 在肺结核患者肺组织中发现, 坏死和非坏死肉芽肿中均有巨噬细胞表达 CD206, 而 iNOS 表达水平较低; 表明 M2 巨噬细胞在活动性肺结核患者肉芽肿组织中为主要活化形式。而在肺结核患者的非肉芽肿性肺组织中, iNOS 和 CD206 均有高表达, 表明肺结核患者肺组织中 M1 和 M2 型巨噬细胞共存。不同极化状态下巨噬细胞肉芽肿结构形成的速度相似。M1 型巨噬细胞诱导 IFN $\gamma$  + LPS 促进肉芽肿形成, 表现为肉芽肿组织结构及数量的增加和巨噬细胞体积的增加; 而可能由 IL-10 介导的 M2 型巨噬细胞, 其诱导 IL-4 显著抑制结核性肉芽肿的形成。Marino 等<sup>[8]</sup>建立计算模型复制了许多灵长类动物 (NHP) 坏死与非坏死的肉芽肿模型, 可见 M1 样巨噬细胞靠近核心, M2 样巨噬细胞位于肉芽肿外区的空间构象, 其空间组织是肉芽肿形成过程中宿主-病原体相互作用产生的, 并不直接影响肉芽肿结局。经典 M1 型肺泡巨噬细胞作为首先结合吸入 MTB 的细胞, 在吞噬体与相应的分泌 ESAT-6 的作用下, MTB 扩散到附近的血管, 导致外周单核细胞分化成 M1 型巨噬细胞。局部炎性环境与凋亡的巨噬细胞二者共同作用趋化天然与适应性免疫细胞, 创建一个影响肉芽肿发生与转归的微环境。ESAT-6 驱动宿主巨噬细胞分化和活化, 在感染后期诱导肉芽肿形成并破坏免疫应答。MTB 分泌 ESAT-6 以促进肉芽肿的存活, 而 ESAT-6 可调节巨噬细胞炎性 M1 表型和诱发 M1 型巨噬细胞免疫调节 M2 表型。MTB 在体内存活并缓慢扩散, M2 型巨噬细胞和微环境有利于具有 Th2 和 Treg 免疫反应特征的结核性肉芽肿的形成, 即 ESAT-6 驱动非极化 M0 巨噬细胞和抗炎 M2 巨噬细胞向促炎 M1 表型分化, 进而诱导全活性巨噬细胞从 M1 向 M2 表型转换<sup>[28]</sup>。

以上研究表明, 巨噬细胞极化状态在调控结核性肉芽肿的形成和发展中发挥着无可替代的作用, 巨噬细胞分化途径的不同是导致部分肉芽肿可以抑制 MTB 的传播, 而另一部分则促进病原体传播的原因。在结核性肉芽肿中, 不同类型的巨噬细胞存在着空间分布的特征: M1 型靠近肉芽肿中心坏死区域而 M2 型靠近外周部分。越来越多的研究表明<sup>[5, 27-28]</sup>, 巨噬细胞极化同结核性肉芽肿形成和发展过程有着极强的相关性, 巨噬细胞极化类型的不同和功能的改变很有可能是导致结核性肉芽肿结局不同的原因之一, 并且在调控结核性肉芽肿发生发

展过程中发挥着关键作用。

#### 4 巨噬细胞极化与结核病

巨噬细胞的极化方式显著影响抗结核感染免疫的结局已被证实。在 MTB 感染机体的过程中, 巨噬细胞极化介导的免疫应答对感染过程的表现和转归起着重要的作用。越来越多的研究证明, 巨噬细胞的极化可能成为治疗结核病的一种新方法。

4.1 巨噬细胞极化中趋化因子与结核病 对于活动性结核患者单核细胞来源的巨噬细胞 (MDM) 趋化因子 C-C 基序配体 5 (C-C motif ligand 5, CCL5)<sup>[29]</sup> 的表达水平, 刘艳华等<sup>[19]</sup> 研究提示, 活动性结核患者 MDM 极化为 M1 型时, CCL5 的升高倍数高于健康人; 活动性肺结核患者 MDM 极化 M2 型时, CCL5 的升高倍数与健康人相似, 提示巨噬细胞 CCL5 参与结核病的感染免疫。刘艳华等<sup>[30]</sup> 发现健康者 MDM 从 M0 型向 M2 型极化过程中趋化因子受体-4 (CXCR4)<sup>[31]</sup> 的表达显著升高, 提示 CXCR4 与泛素结合可能是 M2 型 MDM 发挥抗炎症作用的重要机制, 而结核患者 M2 型 MDM 中 CXCR4 的表达显著低于健康者, 提示结核患者 M2 型 MDM 中 CXCR4 泛素介导的抗炎症作用受到损伤, 这或许是结核患者持续的炎症反应造成组织损伤的重要机制。

4.2 巨噬细胞极化中细胞因子与结核病 针对健康受试者和结核病患者体内的抗炎细胞因子 IL-37 水平的检测研究, Huang 等<sup>[32]</sup> 发现其在结核患者血清中表达降低, 治疗后又恢复, 且血清中 IL-37 水平同 IFN- $\gamma$ 、IL-12 呈负相关, 与 IL-10、TGF- $\beta$  呈正相关。而 IL-10、TGF- $\beta$  作为 M2 型细胞的特征性细胞因子已成为共识。因此认为 IL-37 可通过抑制促炎细胞因子的分泌以及诱导巨噬细胞向 M2 型分化在结核病发生、发展的过程中发挥病理作用, 增强巨噬细胞向 M2 型的分化, 防止 M1 型诱导的 I 型免疫应答造成的急性炎症损伤。Pineros 等<sup>[14]</sup> 使用了两种不同的方案, 分别在 MTB 感染前后进行致敏和过敏原激发, 只有在过敏源暴露后, 而不是在感染前, 对 MTB 的耐药性才会增加。暴露于变应原的受感染小鼠表现出较低的细菌负荷和肺部细胞浸润。变应原刺激后对感染的抵抗力增强与交替极化巨噬细胞 (M2 型巨噬细胞) 和 IL-33 水平的基因表达增加有关。因此与 IL-37 同属 IL-1 家族的 IL-33 也同 M2 型巨噬细胞的极化存在一定关联, 全身 IL-33 治疗可有效减轻 MTB 感染, 并且有可能作为重症结核病

的替代治疗。

4.3 巨噬细胞极化免疫补体调节蛋白抑制物与结核病 免疫补体调节蛋白 C1 抑制物(C1INH)是一个急性时相蛋白,是一种蛋白酶抑制物,在患者致命感染性休克时,C1INH 水平趋于正常,但灭活的 C1INH 则增加,尤其感染性炎症区 C1INH 水平可增加 2.5 倍。吴世舜等<sup>[33]</sup>研究发现,C1INH 抑制单核细胞在巨噬细胞集落刺激因子(M-CSF)源性 M1 型的 CD14、CD163 和粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)源性 M2 型的 CD206 表型;C1INH 减少 M1 的肿瘤坏死因子(TNF- $\alpha$ )和 IL-6 表达,而增加 M2 型的 15 脂氧合酶(ALOX15)和 IL-10 表达。C1INH 抑制 M1 型的 iNOS mRNA,而提高 M2 的精氨酸酶 1(Arg1)mRNA 表达。C1INH 增强极化巨噬细胞杀菌活性和对菌吞噬功能即促进 M1 型的杀菌活性和 M2 型对菌的吞噬功能。因此 C1INH 调节巨噬细胞极化,可能成为一种潜在的治疗炎症反应的新药物。

4.4 巨噬细胞极化中 PD-1/PD-L1 与结核病 在人类结核病中,PD-1/PD-L1 通路使 MTB 抑制 T 细胞免疫应答,PD-1/PD-L1 信号通路的阻断可能对 MTB 等慢性感染患者有益<sup>[34]</sup>。Barber 等<sup>[35]</sup>证实,诱导 PD-1 表达是必要的,以抑制活动性感染期间导致组织损伤的免疫应答加剧。这一途径在 MTB 感染过程中对 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞功能调控的作用尚未得到深入研究。在此背景下,Suarez 等<sup>[36]</sup>研究显示,CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞通过诱导受感染的巨噬细胞凋亡有助于 MTB 感染的控制。CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞上的 PD-1 在结核性胸膜炎患者的胸腔积液标本感染部位均有高表达。M1 型巨噬细胞更容易被抗原特异性 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞杀伤,而 M1 型靶细胞上 PD-L1 的高表达抵消了 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞的活化,抑制了细胞毒性因子对巨噬细胞的杀伤。证明 PD-1 和 PD-L1 在人类结核病感染部位高表达,证实 MTB 感染与 PD-1/PD-L1 表达增加和巨噬细胞的选择性活化有关,PD-1/PD-L1 通路在体外调节过程中存在对 M1 靶点抗原特异性的细胞毒性作用。

在关于结核性胸膜炎患者中 PD-1 调控的 T 细胞免疫应答研究中,Li 等<sup>[37]</sup>从结核性胸膜炎患者中选择胸膜液单核细胞(PFMCs)和健康供体中的胸膜液单核细胞(PBMCs),研究发现 PFMCs 中表达 PD-1 的 CD4<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞数量增加,这些细胞优先显示极化效应记忆表型。MTB 特异性抗

原刺激增加表达 PD-1 的 CD4<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞数量,这与 PFMCs 中 IFN- $\gamma$  的产生和 PD-L1 抗原提呈细胞直接相关。阻断 PD-1/PD-L1 通路可提高 IFN $\gamma$ T 淋巴细胞的百分比,表明 PD-1/PD-L1 通路对 T 淋巴细胞效应器功能起负性调节作用。此外,表达 PD-1 的 CD4<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞亚群在产生 Th1 细胞因子方面表现出比 PD-1 更大的记忆表型、激活和效应器功能。IL-12 是一种重要的免疫调节细胞因子,通过选择性诱导 CD4-PD-1 T-bet 和 CD8-PD-1 T-bet 细胞中 STAT4 的磷酸化,增强了 PD-1 的表达,恢复了强烈的 IFN $\gamma$  反应。因此,这项研究揭示了以前未知的由 PD-1 调节的 T 淋巴细胞免疫应答机制,可能对 TBP 的潜在免疫干预有意义。

结核病治疗的强化阶段与 PD-1、PD-L1 和 PD-L2 基因表达显著下降有关。活动性结核病患者 NK 细胞、CD8<sup>+</sup>T 和 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞表面 PD-1 蛋白表达与对照组相似,但随着结核病治疗的成功,PD-1 蛋白表达下降,以 NK 细胞下降最多,其次是 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞和 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞。强化治疗成功后,颗粒酶 B/PD-1 共表达下降。活动性肺结核患者 PD-L1 基因表达增高。然而,PD-1 和 PD-L2 未观察到这种情况。Hassan 等<sup>[38]</sup>通过对结核病治疗调控 PD-1/PD-L1 通路的研究,提示 PD-1 轴有望成为未来免疫调节治疗的靶点。

研究表明,对重症结核病、活动性肺结核、结核性胸膜炎患者及健康受试者等进行临床研究的实验过程中,随着人们对巨噬细胞极化介导各种免疫应答的逐步深入探索,对于结核患者持续的炎症反应造成组织损伤的重要机制、重症结核病的替代治疗、在 MTB 感染过程中巨噬细胞的选择性活化及靶点抗原特异性的细胞毒性作用的作用机制,已经有了初步的研究进展。一系列对于参与结核病发生、发展与转归的深入研究可作为结核病治疗的新辅助手段,即成为治疗结核病的新途径,甚至有望成为结核病的替代治疗的新方法。

## 5 结语

综上所述,巨噬细胞极化在潜伏结核感染、结核性肉芽肿形成及其结核病的发生、发展、预后及转归过程中起到了重要的作用,其中 M1 型巨噬细胞在早期 MTB 感染的抵抗中发挥重要作用;M2 型细胞可下调免疫应答、抑制炎症反应及促进组织修复和重塑等。在结核性肉芽肿形成和发展过程中,巨噬细胞极化类型的不同和功能的改变可导致结核性肉

芽肿的结局不同。通过进一步对 M1 型及 M2 型多种信号通路的研究与干预,对不同类型巨噬细胞的极化方向进行诱导,可着手进行对 MTB 生长调节的干预。而从天然免疫及保持 M1 和 M2 型之间细胞功能的平衡着手,有助于我们从根本途径了解巨噬细胞亚型极化方向的机制,对于人们进一步认识结核病的机制,以及宿主靶向干预开辟新的途径。迄今为止,我们对结核病巨噬细胞极化的认识和了解还远远不够,今后,应侧重并深入了解巨噬细胞极化与结核病二者之间的关系,有助于新型结核的免疫制剂的研发,为结核病的预防和治疗奠定重要的理论基础。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

**作者贡献声明** 于佳佳:查阅文献、收集资料、撰写文章;唐神结:对文章的知识性内容进行审阅和指导。

### 参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global tuberculosis report 2018[M]. Geneva: World Health Organization, 2018.
- [2] 王雅, 李传友, 王伟, 等. 巨噬细胞在抗结核感染中的作用[J]. 中国防痨杂志, 2018, 40(2):218-221. DOI:10. 3969/j. issn. 1000-6621. 2018. 02. 020.  
Wang Y, Li CY, Wang W, et al. The role of macrophages in anti-tuberculosis infection[J]. Chin J Antituberc, 2018, 40(2):218-221. DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-6621. 2018. 02. 020. (in Chinese)
- [3] Mege JL, Mehraj V, Capo C. Macrophage polarization and bacterial infections[J]. Curr Opin Infect Dis, 2011, 24(3):230-234. DOI:10. 1097/QCO. 0b013e328344b73e.
- [4] Gordon S, Pluddemann A. Tissue macrophages: heterogeneity and functions[J]. BMC Biol, 2017, 15(1):53. DOI: 10. 1186/s12915-017-0392-4.
- [5] Huang Z, Luo Q, Guo Y, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-induced polarization of human macrophage orchestrates the formation and development of tuberculous granulomas in vitro[J/OL]. PLoS One, 2015, 10(6):e129744. DOI:10. 1371/journal.pone.0129744.
- [6] O'Halloran S, O'Leary A, Kuijper T, et al. MyD88 acts as an adaptor protein for inflammatory signalling induced by amyloid-beta in macrophages[J]. Immunol Lett, 2014, 162(1 Pt A):109-118. DOI:10. 1016/j. imlet. 2014. 08. 001.
- [7] Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm[J]. Nat Immunol, 2010, 11(10):889-896. DOI:10. 1038/ni. 1937.
- [8] Marino S, Cilfone NA, Mattila JT, et al. Macrophage polarization drives granuloma outcome during *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. Infect Immun, 2015, 83(1):324-338. DOI:10. 1128/IAI. 02494-14.
- [9] Melton DW, McManus LM, Gelfond JA, et al. Temporal phenotypic features distinguish polarized macrophages in vitro[J]. Autoimmunity, 2015, 48(3):161-176. DOI:10. 3109/08916934. 2015. 1027816.
- [10] Gordon S, Martinez FO. Alternative activation of macrophages: mechanism and functions[J]. Immunity, 2010, 32(5):593-604. DOI:10. 1016/j. immuni. 2010. 05. 007.
- [11] Spiller KL, Wrona EA, Romero-Torres S, et al. Differential gene expression in human, murine, and cell line-derived macrophages upon polarization[J]. Exp Cell Res, 2016, 347(1):1-13. DOI: 10. 1016/j. yexcr. 2015. 10. 017.
- [12] Heckmann BL, Boada-Romero E, Cunha LD, et al. LC3-associated phagocytosis and inflammation[J]. J Mol Biol, 2017, 429(23):3561-3576. DOI:10. 1016/j. jmb. 2017. 08. 012.
- [13] Caccamo N, Dieli F. Inflammation and the coagulation system in tuberculosis: Tissue factor leads the dance[J]. Eur J Immunol, 2016, 46(2):303-306. DOI:10. 1002/eji. 201546225.
- [14] Pineros AR, Campos LW, Fonseca DM, et al. M2 macrophages or IL-33 treatment attenuate ongoing *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. Sci Rep, 2017, 7:41240. DOI: 10. 1038/srep41240.
- [15] Chen Y, Liu W, Wang Y, et al. Casein Kinase 2 interacting protein-1 regulates M1 and M2 inflammatory macrophage polarization[J]. Cell Signal, 2017, 33:107-121. DOI:10. 1016/j. cellsig. 2017. 02. 015.
- [16] Jang HM, Kang GD, Van Le TK, et al. 4-Methoxylonchocarpin attenuates inflammation by inhibiting lipopolysaccharide binding to Toll-like receptor of macrophages and M1 macrophage polarization[J]. Int Immunopharmacol, 2017, 45:90-97. DOI:10. 1016/j. intimp. 2017. 02. 003.
- [17] Kong LN, Lin X, Huang C, et al. Hesperetin derivative-12 (HDND-12) regulates macrophage polarization by modulating JAK2/STAT3 signaling pathway[J]. Chin J Nat Med, 2019, 17(2):122-130. DOI:10. 1016/S1875-5364(19)30014-7.
- [18] Chen D, Li G, Fu X, et al. Wnt5a deficiency regulates inflammatory cytokine secretion, polarization, and apoptosis in *Mycobacterium tuberculosis*-infected macrophages[J]. DNA Cell Biol, 2017, 36(1):58-66. DOI:10. 1089/dna. 2016. 3418.
- [19] 刘艳华, 俞珊, 王若, 等. 活动性结核患者单核来源巨噬细胞 C-C 基序配体 5 的表达研究[J]. 国际免疫学杂志, 2016, 39(6):527-531. DOI:10. 3760/cma. j. issn. 1673-4394. 2016. 06. 001.  
Liu YH, Yu S, Wang R, et al. The study of the C-C motif ligand 5 expression in monocyte-derived macrophage from active tuberculosis patients[J]. Int J Immunol, 2016, 39(6):527-531. DOI: 10. 3760/cma. j. issn. 1673-4394. 2016. 06. 001. (in Chinese)
- [20] 范琳琳. 结核分枝杆菌 HBHA 和 ESAT-6 对巨噬细胞极化作用的研究[D]. 空军军医大学临床医学, 2018.  
Fan LL. Effects of *Mycobacterium tuberculosis* HBHA and ESAT-6 on macrophage polarization[D]. National Nature Science Funding of China, 2018. (in Chinese)
- [21] Lim YJ, Yi MH, Choi JA, et al. Roles of endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis in M1-polarized macrophages during

- mycobacterial infections[J]. Sci Rep, 2016,6:37211. DOI:10.1038/srep37211.
- [22] Lopes RL, Borges TJ, Zanin RF, et al. IL-10 is required for polarization of macrophages to M2-like phenotype by mycobacterial DnaK (heat shock protein 70)[J]. Cytokine, 2016,85:123-129. DOI:10.1016/j.cyt.2016.06.018.
- [23] Shen P, Li Q, Ma J, et al. IRAK-M alters the polarity of macrophages to facilitate the survival of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. BMC Microbiol, 2017,17(1):185. DOI:10.1186/s12866-017-1095-2.
- [24] 孟慧杰. 结核特异性多肽 E7 诱导巨噬细胞极化的信号通路的探讨[D]. 广州医科大学内科学, 2018.  
Meng HJ. Study on the signal pathway of macrophage polarization induced by the TB-specific Polypeptide E7 [D]. Guangzhou Medical University, 2018. (in Chinese)
- [25] Chiba S, Hisamatsu T, Suzuki H, et al. Glycolysis regulates LPS-induced cytokine production in M2 polarized human macrophages [J]. Immunol Lett, 2017,183:17-23. DOI:10.1016/j.imlet.2017.01.012.
- [26] Gao X, Wu C, Wang X, et al. The DosR antigen Rv1737c from *Mycobacterium tuberculosis* confers inflammation regulation in tuberculosis infection [J]. Scand J Immunol, 2019,89(1):e12729. DOI:10.1111/sji.12729.
- [27] Shamaei M, Mortaz E, Pourabdollah M, et al. Evidence for M2 macrophages in granulomas from pulmonary sarcoidosis: A new aspect of macrophage heterogeneity[J]. Hum Immunol, 2018,79(1):63-69. DOI:10.1016/j.humimm.2017.10.009.
- [28] Refai A, Gritli S, Barbouche MR, et al. *Mycobacterium tuberculosis* virulent factor ESAT-6 drives macrophage differentiation toward the pro-inflammatory M1 phenotype and subsequently switches it to the anti-inflammatory M2 phenotype [J]. Front Cell Infect Microbiol, 2018,8:327. DOI:10.3389/fcimb.2018.00327.
- [29] Marques RE, Guabiraba R, Russo RC, et al. Targeting CCL5 in inflammation [J]. Expert Opin Ther Targets, 2013,17(12):1439-1460. DOI:10.1517/14728222.2013.837886.
- [30] 刘艳华,王若,程小星. 活动性结核患者单核来源巨噬细胞中 C-X-C 型趋化因子受体 4 的表达研究[J]. 国际呼吸杂志, 2017,37(3):178-182. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2017.03.005.  
Liu YH, Wang R, Cheng XX. The study of the C-X-C chemokine receptor 4 expression on monocyte-derived macrophage from active tuberculosis patients [J]. Int J Respir, 2017,37(3):178-182. DOI:10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2017.03.005. (in Chinese)
- [31] Nagasawa T. CXCL12/SDF-1 and CXCR4 [J]. Front Immunol, 2015,6:301. DOI:10.3389/fimmu.2015.00301.
- [32] Huang Z, Gao C, Chi X, et al. IL-37 expression is upregulated in patients with tuberculosis and induces macrophages towards an M2-like phenotype [J]. Scand J Immunol, 2015,82(4):370-379. DOI:10.1111/sji.12326.
- [33] 吴世舜,余文博,刘梦元,等. 免疫补体调节蛋白 C1 抑制物对巨噬细胞极化的作用[J]. 中国免疫学杂志, 2018,34(12):1761-1765. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2018.12.001.  
Wu SS, Yu WB, Liu MY, et al. Complement regulation protein C1 inhibitor regulates macrophage polarization [J]. Chinese Journal of Immunology, 2018,34(12):1761-1765. DOI:10.3969/j.issn.1000-484X.2018.12.001. (in Chinese)
- [34] Cao S, Li J, Lu J, et al. *Mycobacterium tuberculosis* antigens repress Th1 immune response suppression and promotes lung cancer metastasis through PD-1/PDL-1 signaling pathway [J]. Cell Death Dis, 2019,10(2):44. DOI:10.1038/s41419-018-1237-y.
- [35] Barber DL, Mayer-Barber KD, Feng CG, et al. CD4 T cells promote rather than control tuberculosis in the absence of PD-1-mediated inhibition [J]. J Immunol, 2011,186(3):1598-1607. DOI:10.4049/jimmunol.1003304.
- [36] Suarez GV, Melucci GC, Vecchione MB, et al. PD-1/PD-L1 pathway modulates macrophage susceptibility to *mycobacterium tuberculosis* specific CD8(+) T cell induced death [J]. Sci Rep, 2019,9(1):187. DOI:10.1038/s41598-018-36403-2.
- [37] Li J, Jin C, Wu C, et al. PD-1 modulating *mycobacterium tuberculosis*-specific polarized effector memory T cells response in tuberculosis pleurisy [J]. J Leukoc Biol, 2019. DOI:10.1002/JLB.MA1118-450RR.
- [38] Hassan SS, Akram M, King EC, et al. PD-1, PD-L1 and PD-L2 gene expression on T-Cells and natural killer cells declines in conjunction with a reduction in PD-1 protein during the intensive phase of tuberculosis treatment [J/OL]. PLoS One, 2015,10(9):e137646. DOI:10.1371/journal.pone.0137646.

(收稿日期:2019-04-09)

(本文编辑:彭芳)