

精清诱导 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞 限制早期妊娠免疫应答的研究进展

屈治权¹ 毛景欣²

1. 重庆市巫溪县畜牧兽医管理中心, 重庆巫溪 405800; 2. 西南大学药学院, 重庆北碚 400715

摘要 精清作为受精过程中重要的物质组成部分, 不仅在公畜生殖道内具有保护成熟精子的作用, 还能够 在受精卵发育早期限制子宫内的免疫应答反应, 使妊娠过程正常完成。精清中含有妊娠母体的免疫抑制因子 TGF- β (转录活性因子 β)、PGE₂ (前列腺素 E) 等能够诱导 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的激活和增殖。CD4⁺CD25⁺T 调节细胞是唯一一类能抑制细胞免疫应答的 T 细胞, 它能够调节妊娠早期的免疫耐受, 影响胚胎的正常发育、后代的代谢表型以及疾病的发生。

关键词 精清; CD4⁺CD25⁺T 调节细胞; 免疫耐受

在动物繁殖过程中, 精子的产生和排出往往伴随着精清的浸润, 并且与精子共同进入母体生殖道内, 完成整个受精过程。传统的研究主要将精清的功能定位在对精子作用上。近年来, 通过分子生物学技术的不断发展, 精清在受精乃至妊娠早期的功能得到了新的扩展, 除了对精子的活化营养及保护运输, 精清的缺失可能会导致母畜的繁殖性能下降, 疾病发生率上升, 后代代谢紊乱^[1]。同时, 通过对 FOXP3 特殊转录因子的表达量检测, 缺少 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞的数量也随之减少。在昆虫中, 精清可以独立于精子通过影响免疫系统和促进受精过程来影响母体的繁殖^[2]。在小鼠、猪、人等脊椎动物中, 也显示精液能够对受精后母体的生殖道产生实质的影响^[3]。精清在雌性生殖道内能够独立于精子调控早期妊娠过程中的免疫耐受作用, 使得作为同种异源物质的精子, 受精卵乃至早期胚胎可以在于受孕或妊娠母体内稳定存在和正常发育, 最终完成繁殖过程。本文综述了精清中重要的免疫抑制因子, 免疫因子诱导 CD4⁺CD25⁺T 调控免疫应答限制的调控过程以及精清对于免疫耐受的作用与意义。

1 精清中的免疫抑制因子

精清是精液的重要组成部分, 其主要由前列

腺、精囊腺和尿道球腺以及附睾产生。在生成和产生成熟精子的过程中, 主要起到了保护营养精子、促进精子成熟、协助精子运输等作用。精清在精液中所占比例高, 达到 90%~99%, 其中主要包括了糖类、蛋白质、多肽、脂类、酶类、维生素、无机盐以及水等物质。精清内含有丰富的物质种类, 其中包括大量的信号因子, 如细胞因子、性激素、前列腺素等。一些研究已经证明在雄性精液内存在对母体生殖道具有信号传递作用的因子, 如生长转换因子 TGF- β 、前列腺素 PGE₂、白细胞介素 8 IL-8^[4]、人白血球抗原 HLA-G^[5]。这些信号分子在雌性生殖道内为精清发挥功能提供了必要条件^[6]。其中, 来自精囊腺等副性腺的细胞因子 TGF- β 、PGE 是主要的免疫抑制因子, 并能够诱导雌性内生殖道黏膜上的免疫细胞产生相关的免疫应答耐受从而保持配子和孕体的相对稳定^[7]。

转录活性因子 β (Transforming growth factor β , TGF- β) 属于调节细胞生长和分化的 TGF- β 超家族。主要分为 TGF-1 β 、2 β 和 3 β , 三者功能相似, 其主要功能是抑制免疫活性细胞的增殖。早在 1998 年, TGF- β 通过子宫壁白细胞免疫应答反应被鉴定为精清中的一个重要激活因子。TGF- β 同时也被认定是女性或母畜受精过程中重要的精清信号

分子。TGF-β 能够抑制 IL-3、GM-CSF、M-CSF 所诱导小鼠造血前体细胞和 LTBM 的集落形成,并降低巨核细胞对 IL-3T 和 CSF 的反应性;抑制 ConA 诱导或 ConA 与 IL-2、IL-6 联合诱导的胸腺细胞增殖;抑制丝裂原、同种异体抗原刺激的 T 细胞增殖或 IL-2 依赖的 T 细胞生长;抑制 SAC 刺激后 IL-2 依赖的 B 细胞增殖。

前列腺素 E2(E-series prostaglandins 2,PGE2)是一种重要的细胞生长和调节因子,是花生四烯酸环氧合酶代谢产物,为二十碳不饱和脂肪酸。作为前列腺素(PG)的一种具有扩张血管、增加器官血流量、降低血管外周阻力、降低血压作用,使支气管平滑肌舒张,降低通气阻力的功能。PGE₂ 能够诱导 IL8 表达,并且抑制炎症分子及分泌性白细胞蛋白酶抑制剂。早在 1978 年被鉴定存在于精清当中,同时 PGE2 具有免疫抑制作用。

2 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞

1995 年,CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞作为一类免疫调节性细胞被人们发现。CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞主要来源于胸腺,其主要功能是发挥抑制性免疫调节作用,阻碍全身各个组织中破坏性免疫反应^[8]。CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞作为唯一一种具有免疫抑制性的 T 细胞由多种 T 细胞亚型所组成,根据其来源和效应可分为天然性调节 T 细胞(CD4⁺CD25⁺Tr)及获得性调节性 T 细胞(CD4⁺CD25⁺T_H)。

1)精液诱导 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞发生。CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞起源于胸腺,该类细胞在胸腺内发育依赖低浓度、高亲和力的 MHC-II / 肽复合物或外周自身抗原在胸腺内呈递。有研究表明,CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞可能是由外周经历了反复特异性刺激后逐渐由 CD4⁺T 细胞分化而来。而 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞本身存在的特性转录因子 FOXP3(fork-

head/winged helix transcription factor)也会对其诱导 T 细胞分化产生影响。最近的研究发现,CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的发生与树状突细胞具有较大的关联性,并在大量细胞因子的作用下产生往复循环过程。首先,树状突细胞在低浓度细胞因子(粒细胞集落刺激因子 G-CSF,巨噬细胞刺激因子 GM-CSF,抑制共刺激因子 CTLA-4,白细胞介素 10 以及 IDO,吡啶胺 2,3 加双氧酶)的作用下转化形成成熟的树状突细胞。通过 MHC-II,成熟的树状突细胞与幼稚的 T 细胞相互接触,在白细胞介素 2 和 15 的作用下,激活幼稚 T 细胞分化成为 CD4⁺CD25⁺T 调节性 T 细胞。此过程始终保持一个较低水平的循环模式,从而使得 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞数量相对稳定,但当精清进入生殖道内,精清内的免疫抑制因子 TGF-β 和 PGE2 能够促进 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞的增殖,从而达到受精过程中免疫耐受的效果如图 1。

2)CD4⁺CD25⁺T 调节细胞作用机制。目前一般认为 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞的作用机制有以下 3 种:①体外通过细胞间接触机制发挥作用。CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞可通过 CTLA-4、TGF-β 及 GITR 等与靶细胞上的相应受体结合,并抑制靶细胞上 IL-2R_α 链的表达,降低靶细胞对 IL-2 的反应性,从而抑制效应 T 细胞的增殖;②体内调节功能主要依靠抑制性细胞因子,如 IL-10、IL-4 及 TGF-β。受机体免疫应答强度大小、调节位点(如细胞因子环境)等不同因素的影响,CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞分泌的抑制性细胞因子在不同的疾病中呈现出不同的特性,作用机制更为复杂;③ CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞还可以通过与抗原呈递细胞的作用来调节机体免疫。近期研究表明,活化后的 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞可表达颗粒酶 A,在细胞直接接触的基础上,通过穿孔素依赖的细胞毒作

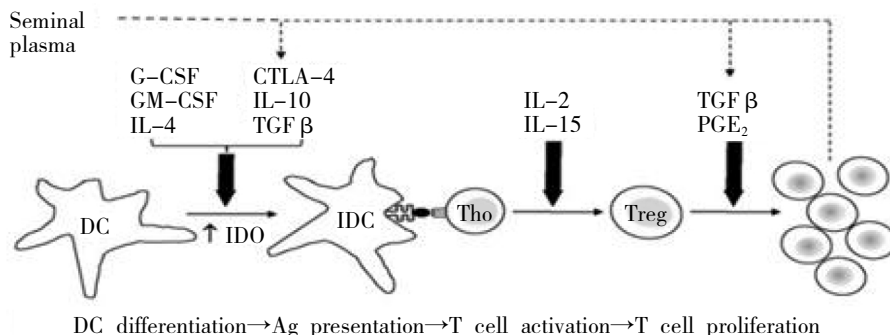


图 1 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞发生、激活、增殖示意图

用杀伤多种自体靶细胞^[9]。

3 精清妊娠过程中的免疫耐受作用机制

在整个繁殖过程中,雌性子宫内免疫耐受始终保持较高的水平。雌雄个体交配前,雌性个体进入繁殖生理周期中的发情期,此时,体内雌激素 E2 水平达到最高^[2]。雌激素能够直接诱导 EOXP3 的高表达或是诱导趋化因子 CCL3、CCL4 和 CCL5 高表达作用于细胞趋化因子受体 CCR5,从而促进 EOXP3 的高表达^[10],促进了 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞的激活与增殖。此阶段中,CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞的增殖和补充不依赖精清中同种异体抗原暴露和本身细胞表面的表面抗原受体的异化。受精卵在子宫内附植后,胎盘逐渐形成,胎盘的滋养层细胞侵入母体内,并能够释放趋化因子 CCL4 及 TGF-β,从而增强 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞调控的免疫耐受过程。而在发情期后期到胚胎附植前的阶段,雌激素水平逐渐降低,胎盘免疫耐受机制还未生成。两性交配过程中提供的精清使这个阶段的免疫耐受高水平得以保持,从而保证了精子的存活、受精卵的正常发育(图 2)。因为精清中能够参与免疫应答的抗原物质或免疫限制因子在受精过程中参与了免疫反应,而其他物质通过消耗或母体自动排除体外等途径被彻底消耗,在附植后并不能起作用。因此,可以确定在未附植的妊娠早期精清起到了免疫耐受的主要作用。

精清中包含与精子无相关性的抗原,主要分为主要组织相容性复合体 MHC-II、Ia 和 Ib。雌雄个体性交后,免疫反应主要发生在脱落的雌性生殖道黏膜上。MHC 和其他抗原表达在这些内膜破损的部分,从而进入血液或直接呈递给周围的免疫细胞,

不同的生物对于产生免疫反应的抗原种类有所不同。精清对内膜免疫耐受作用是独立存在的,它并不依靠精子。精清通过雌雄个体交配可以激活和促进 T 细胞从淋巴结流出,通过白细胞介素 2 和 4、IL-2、IL-4 形成 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞,FOXP3 表达增加也可以促进 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞的增殖。当结扎副性腺的公鼠与正常母鼠交配后,CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞不会增殖。这也说明了在妊娠早期精子诱导耐受调节功能是通过介导 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞表达完成。

4 精清免疫耐受的临床学意义

精清并不单纯是运送精子的载体,它还具有特定的免疫功能和相应的生理学意义。

1)精清对精子的保护。精清首先可以稀释、营养、活化和保护精子,并能够将精子运送到子宫内与成熟的卵子结合,从而防止精子发育过程中在雄性生殖道内遭到破坏。其次,在精子产生后,精清对精子的保护贯穿整个雄、雌性生殖道,在雄性生殖道内通过血睾屏障及精清中的环唾液酸糖蛋白保护精子产生抗原豁免;在雌性生殖道内,通过精清内的免疫抑制因子 TGF-β、PGE2 等防止免疫攻击,使得雌性生殖道精液致敏的可能性降到最低限度,从而保护精子以及受精卵遭受排斥。

2)精清对胚胎及后代的影响。精清在雌性生殖道内对精子和受精卵起到抗原豁免的保护功能,从而保障了精子和受精卵的功能和结构的完整性。所以精清的缺乏会使得雄性受精能力、母畜受胎率的下降,更为严重地可能会影响胚胎发育和后代生长。在小鼠上去除精清内的副性腺液体会引起母鼠受胎率下降,产子数减少,胎盘增厚,而产生的后代

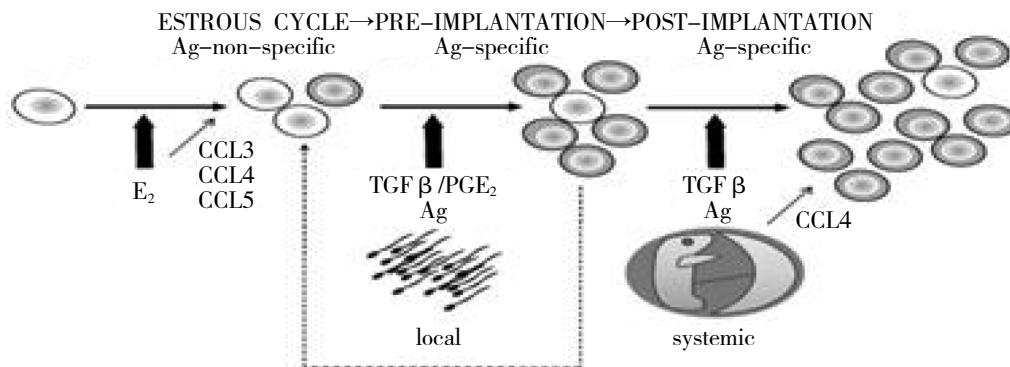


图 2 繁殖过程中免疫耐受的主要过程

公鼠存在肥胖、葡萄糖耐受能力低、以及高血压等代谢性疾病症状^[2]。

3) 精清与疾病的生成。精液可以防止母体机体对精子产生免疫反应,这对于成功的生殖繁殖过程固然重要,但与此同时所付出的代价则是精清对机体其他至关重要的免疫过程也有强烈的抑制效应。长期受到精清抑制的母体内生殖道可诱发各种支原体或微生物感染,还可导致病毒诱发的子宫颈癌发病率增高^[1]。副性腺炎症或损伤导致的精清异常不仅会导致雄性精子质量下降,在雌性生殖道内还可能引起抗精子抗体增加,母体对精子或受精卵产生过高的免疫反应,使得雌性不孕^[3]。

5 总结与展望

实践证明,在早期妊娠过程中,精清能够提供同种异体抗原和免疫信号分子,激活幼稚型 T 细胞,增加 T 调节性细胞数量,从而在受孕或妊娠母畜生殖道内形成免疫耐受,最终使受精过程能够顺利进行以及保证胚胎的正常发育。在一定程度上,生殖道内免疫应答的扰乱或异常可能会导致受精卵不能附植在子宫壁上,由此导致的不孕可以用精清的缺乏来解释。而长期处于免疫耐受下的母体可能因为免疫反应程度低而导致病毒易感或自身免疫疾病。精清诱导 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞产生的免疫耐受机制可能提供一个途径来生产相关的繁殖性药物,从而治疗因 CD4⁺CD25⁺T 调节性细胞相关免疫紊乱而造成的生殖生理疾病^[8]。其次,高新繁殖技术已经在畜禽生产过程中频繁使用,这些新技术的使用往往忽略了精清在受精或妊娠初期的作用,如精清在人工授精或胚胎移植过程中被洗脱,考虑精清的作用或用其他有效物质代替也可能是提高新技术应用中受精率或受胎率的重要手段之一。

参 考 文 献

- [1] BROMFIELD J J, SCHJENKEN J E, CHIN P Y, et al. Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2014, 111(6): 2200.
- [2] POIANI A. Complexity of seminal fluid: A Review [J]. *Behavioral Ecology & Sociobiology*, 2006, 60(3): 289-310.
- [3] SCHJENKEN J, ROBERTSON S. Seminal fluid and immune adaptation for pregnancy—comparative biology in mammalian species [J]. *Reproduction in domestic animals*, 2014, 49 Suppl 3(s3): 27.
- [4] GUTSCHE S, VON W M, STROWITZKI T, et al. Seminal plasma induces mRNA expression of IL-1 β , IL-6 and LIF in endometrial epithelial cells in vitro. [J]. *Molecular Human Reproduction*, 2003, 9(12): 785.
- [5] LARSEN M H, ZINYAMA R, KALLESTRUP P, et al. HLA-G 3' untranslated region 14-base pair deletion: association with poor survival in an HIV-1-infected Zimbabwean population [J]. *Journal of Infectious Diseases*, 2013, 207(6): 903.
- [6] MAEGAWA M, KAMADA M, IRAHARA M, et al. A repertoire of cytokines in human seminal plasma [J]. *Journal of Reproductive Immunology*, 2002, 54(1): 33-42.
- [7] HERNDLERBRANDSTETTER D, FLAVELL R A. Producing GM-CSF: a unique T helper subset? [J]. *Cell Research*, 2014, 24(12): 1379-1380.
- [8] BELKAID Y, PICCIRILLO C A, MENDEZ S, et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells control *Leishmania major* persistence and immunity [J]. *Nature*, 2002, 420(6915): 502.
- [9] VERBSKY J W, CHATILA T A. T-regulatory cells in primary immune deficiencies [J]. *Current Opinion in Allergy & Clinical Immunology*, 2011, 11(6): 539-544.
- [10] KALLIKOURDIS M, ANDERSEN K G, WELCH K A, et al. Alloantigen-enhanced accumulation of CCR5⁺ effector regulatory T cells in the gravid uterus. [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(2): 594-599.