

· 基础医学 ·

性激素对机体免疫系统功能的影响

牛建英 综述 刘志红 审校

关键词 免疫功能 性激素

临床研究发现自身免疫性疾病的发病存在明显的性别差异,其中类风湿性关节炎(RA)的发病率男女比例为1:2~1:3,而系统性红斑狼疮(SLE)的男女比例高达1:5~1:12。即使同一种疾病在男女患者之间的临床表现、治疗反应及其预后也存在明显不同。有研究观察到^[1],男性SLE患者合并心、肺、肝、浆膜腔、中枢神经、血液系统病变较女性SLE多见或严重,而发热、皮疹、雷诺征较少见;男性SLE患者肾脏病理中血管病变、血栓形成、间质浸润较女性严重,他们对常规激素治疗反应不如女性明显,预后差,加用细胞毒药物、抗凝治疗后有所改善。可以推测不同性别患者体内性激素的差别可能是导致SLE患者表现差异的主要原因。目前研究认为自身免疫性疾病发病的共同特点是自身免疫耐受性的破坏,其中机体免疫应答异常是关键,提示性激素不仅在性别的分化和生育方面起重要作用,同时能够影响机体免疫系统的功能^[2]。

1 机体免疫应答在不同性别中的差异

1986年Mosmann等发现,小鼠CD4⁺T细胞按细胞因子产生的模式和生物功能,有两种不同的亚群,分别称为Th1和Th2。之后Magg等证实,人类CD4⁺T细胞也有Th1和Th2细胞之分,这两种细胞由共同的前身细胞Th0分化而来。目前有学者认为Th1和Th2代表两个极端,在它们之间可能还存在多种过渡型,如Th3细胞。这些细胞通过两种方式产生免疫应答,其中Th1细胞分泌白介素-2(IL-2)、干扰素γ(IFN-γ)、肿瘤坏死因子β(TNF-β)、IL-17和淋巴毒素,构成一种致炎症环境,主要介导细胞免

疫,表现在诱导巨噬细胞及细胞毒性T细胞活化,以及促进细胞内致病源的清除。Th2细胞分泌IL-4、IL-5、IL-6、IL-10、IL-13以及转化生长因子α(TGF-β),主要介导体液免疫,刺激抗体生成。性别是影响T、B细胞免疫应答、细胞因子分泌的重要因素,因此当接受刺激后,男女两性之间发生的免疫反应及其免疫反应的程度也存在明显的差异(附表)。女性较男性更易产生较多的抗体,女性CD4⁺T细胞水平也较高。接触病原菌或抗原刺激后,女性会产生较强的以Th1为主的免疫反应。

附表 不同性别免疫应答反应的差异

	女性	男性
产生免疫球蛋白IgG的水平	++	+
产生免疫球蛋白IgM的水平	++	+
CD4 ⁺ T细胞的数量	++	+
分泌IFN-γ的细胞数量	+	++
分泌TGF-β的细胞数量	++	+
趋化因子的产生	++	+
病原菌/抗原刺激后的反应	以Th1为主,妊娠期则以Th2为主	以Th2为主

2 性激素影响免疫系统的作用机制

性别对机体免疫应答反应的影响是通过性激素而发挥作用,其中主要包括雌激素、雄激素和孕激素。性激素通过与免疫细胞表面特异性受体结合而发挥其生物学作用。目前已知雌激素受体(ER)包括ERα和ERβ两种类型,单核细胞、T细胞、B细胞、自然杀伤(NK)细胞表面均表达ER,其中雌激素对NK细胞发挥作用主要通过ERβ,而对T、B细胞的作用主要通过ERα^[3,4]。研究证实胸腺细胞、巨噬细胞、T细胞以及B细胞具有雄激素受体的表达。分离C57BL/10大鼠脾脏B细胞,利用RT-PCR技术

[作者单位] 南京军区南京总医院 解放军肾脏病研究所
万方数据南京 210002)

检测雄激素受体, 结果发现, B 细胞不同于 T 细胞和巨噬细胞, 细胞内只有雄激素受体的表达, 而无雄激素细胞膜受体的存在^[5]。此外对脾脏和骨髓中淋巴细胞的研究发现这些细胞表达雄激素受体的水平远远高于外周血中成熟淋巴细胞雄激素受体的表达, 提示雄激素对淋巴细胞的发育和活化起着更为重要的作用^[6]。关于孕激素受体的研究表明, 脾脏细胞和外周血 T 细胞、B 细胞表达孕激素受体, 某些胸腺细胞也有孕激素受体的存在, 应用雌激素治疗后孕激素受体阳性的胸腺细胞数量可以明显提高^[7]。性激素发挥作用的共同分子机制为: 游离性激素经被动扩散进入靶细胞, 与特异性受体结合形成复合物, 经过受体分子激活, 而后与特异 DNA 片段, 即类固醇反应元件呈高亲和力结合, 类固醇反应元件作为转录因子能够促进多个结构基因的转录, 或改变转录后机制, 导致 mRNA 的变化, 进而翻译为蛋白质, 产生生物效应。

性激素影响免疫系统有多种方式: 能够调节 T 细胞受体的信号系统, 改变 T 细胞和抗原递呈细胞表面活化分子的表达, 影响细胞因子基因的转录和翻译, 进而增强或减弱免疫应答。研究表明, 性激素与淋巴细胞表面相应的受体结合会刺激细胞外钙离子的内流, 使细胞内多种蛋白质底物发生磷酸化, 进而引起免疫细胞的活化, 无反应, 或者发生凋亡。这些刺激信号也可引起核因子 κB (NF- κB) 的激活, 从而调节细胞的信号系统^[8]。此外, 性激素可通过调节细胞因子的基因转录和翻译影响免疫系统。对切除睾丸的 C57BL/6 大鼠给予雌激素治疗, 结果发现胸腺细胞、未分离的脾脏细胞和富含 T 细胞的脾脏细胞经刀豆球蛋白 A (ConA) 刺激后 IFN- γ mRNA、IL-2mRNA 的转录水平明显提高, 而 IL-4mRNA 无变化, 在 ConA 刺激未分离的脾脏细胞培养上清液中发现 IFN- γ 的分泌明显增多, 而富含 T 细胞的培养液中无此现象, 提示细胞因子的产生和分泌需要抗原递呈细胞表面刺激信号的共同参与^[9]。

3 性激素对机体免疫系统功能的影响

临床研究发现, SLE 患者体内存在以 Th2 为主的免疫应答, 妊娠可使其病情加重, 而 RA 患者则以 Th1 为主, 而且妊娠时病情能够得到缓解。提示性激素作为免疫调节剂能够影响机体免疫细胞的发育、成熟、活化、死亡以及免疫功能。

3.1 雌激素 动物实验和临床研究发现, 雌激素对机体免疫反应的影响具有双向作用。低水平的雌激素可增强特异性的免疫反应, 如增强骨髓移植的排斥反应, 增强淋巴细胞的免疫应答, 而高水平时具有免疫抑制作用, 能够降低体外淋巴细胞对植物血凝素 (PHA)、ConA 的应答, 抑制细胞介导的免疫, 抑制 NK 细胞活性。

雌激素能够影响 B 细胞的发育和活化。缓慢给予雌激素治疗会导致大鼠骨髓和胸腺的重量减少^[10], 而这些器官是自身反应性细胞分化成熟的场所。Kincade 等^[11]研究观察到, 雌激素可诱导骨髓中前 B 细胞在 IL-7 敏感阶段的死亡。这种作用曾经被认为是间接的, 因为当时在前 B 细胞表面没有发现任何 ER。但随着研究的深入, 人们发现免疫细胞表面存在另一种 ER, 即 ER β 。最近对敲除雌激素受体 ER α 大鼠的研究也证实雌激素对于 B 细胞的发育具有直接的作用^[12]。此外, 雌激素也能通过调节骨髓中的基质细胞影响 B 细胞的发育, 因为基质细胞表面存在 ER α 。研究证实雌激素具有增强自身反应性 B 细胞活化的功能。雌激素诱导 B 细胞的活化可能是通过干扰 B 细胞的凋亡起作用。对 C57BL/6 大鼠的研究表明, 雌激素治疗后 B 细胞具有抵抗凋亡的作用^[10], 这可能是由于雌激素能够上调 B 细胞表面 Bcl-2 的表达^[13]。雌激素诱导 B 细胞活化的另一机制可能是通过影响细胞因子所致。由于细胞因子能够介导淋巴细胞的生长和功能, 因此细胞因子的缺乏会破坏自身耐受的发育。体外实验表明, 用雌激素刺激淋巴细胞可影响 T 细胞和巨噬细胞产生细胞因子^[14], 它可能是通过影响多种细胞因子上游编码基因发挥作用^[15]。雌激素可提高 BALB/C 大鼠分泌 IL-6 和 IL-10 细胞的数量。Dayan 等^[16]的研究也表明用抗雌激素治疗可提高 Th1 细胞因子 IL-2 和 IFN- γ 的水平, 同时降低 IL-10、IL-1 和 TNF- α 的水平。众所周知, IL-6 和 IL-10 是重要的体外 B 细胞的活化剂, 能够通过刺激 B 细胞发育成浆细胞促进免疫球蛋白的产生。

雌激素可以通过多克隆激活来调节 B 细胞的功能。研究表明给予正常大鼠雌激素治疗后, 机体对阴离子磷脂、溶菌素、卵白蛋白和微生物等多种外来抗原的刺激均产生高滴度的以 IgG 为主的抗体而非 IgA、IgE^[17]。其中 IgG 亚型主要表现为 IgG1 和 IgG2b, 这与雌激素治疗后细胞介导的以 Th2 为主的

免疫反应一致。究其诱导抗体滴度增高的原因,我们假设可能与以下因素相关:①B细胞本身数量的增多;②B细胞发育成浆细胞的数量增多;③每个细胞产生抗体的水平提高。有学者利用流式细胞仪检测雌激素治疗后大鼠的脾脏细胞,结果表明脾脏中B220⁺CD19⁺细胞并没有增多,提示雌激素并不诱导成熟B细胞数量的增多。脾脏组织学检查发现CD19⁻和CD20⁻的浆细胞数量增加约10倍,浆细胞数量的增多使脾脏能够分泌IgG的细胞数量增加6倍。在骨髓中重复上述研究,结果发现骨髓中具有分泌IgG能力的细胞数量增加了10倍;而且,脾脏和骨髓中每个细胞产生抗体的能力也大大提高^[17]。因此,雌激素诱导抗体的产生主要是由于脾脏和骨髓中浆细胞数量和活性的提高所致,而非B细胞自身数量的增多。

Klinman等^[18]对B/W和MRL/lpr大鼠的研究表明生理状态下机体B细胞产生自身抗体的能力并不占优势,只有在特异性抗原持续刺激下才具有产生大量自身抗体,并使自身免疫反应持续存在的能力^[18]。雌激素可提高淋巴细胞成熟过程中细胞的死亡,这些将死亡的细胞能够使阴离子磷脂暴露于细胞膜上释放dsDNA。因此推测自身反应性B细胞增多可能是由于自身抗原的提高所致。然而观察与自身抗原或异种抗原接触后分泌抗体的B细胞的比例,发现雌激素治疗组和正常对照组结果是相似的,提示B细胞抗体产生的提高并不是由于与抗原接触增多所致,而是B细胞多克隆活化的结果。

与大鼠的研究结果相似,雌激素也能够影响人类淋巴细胞的活化和功能。利用美洲商陆(PWM)刺激正常人B细胞,结果发现雌激素可增强B细胞对PWM的应答。同样,雌激素可提高体外培养的单个核细胞(PBMC)分泌IgM和IgG的水平,这种作用依赖于单核细胞分泌的IL-10的水平^[19]。此外,研究也证实分泌IL-4的PBMC的数量与雌激素水平关系密切;在卵泡阶段分泌IL-6的细胞数量大于黄体阶段^[20]。由于IL-4和IL-6是B细胞活化的共同诱导剂,因此这些研究结果有利于我们理解女性体内存在较强的体液免疫这一事实,而且雌激素是通过刺激Th2细胞因子的产生增强B细胞的活化。

3.2 孕激素 妊娠期间免疫系统随着性激素代谢的改变会发生相应的变化。其中孕酮的水平明显提高。研究证实孕酮是一种免疫抑制剂^[21],当孕酮浓

度在10~15 μg/ml时,淋巴细胞对PHA和ConA的应答明显降低。此外,孕酮可使大鼠CD8⁺细胞的相对数量下降。孕激素能够促进人类Th2细胞的发育,拮抗Th1细胞的出现,从而促进Th2免疫应答的发展,抑制Th1的应答。

3.3 雄激素 雄激素对于免疫系统具有多种作用。在淋巴细胞的发育过程中,雄激素能够促进骨髓中多能干细胞的增生和分化,最终成为淋巴细胞。而对于淋巴细胞的成熟和活化,雄激素则具有抑制作用。研究发现,雄激素不仅能抑制B细胞、T细胞的成熟,而且能够减少免疫球蛋白的合成,抑制PHA诱导T细胞的增生,抑制B细胞对PWM的应答^[22]。推测雄激素除了与淋巴细胞表面的受体结合发挥作用外,还可能对一些调节基因产生影响,最终通过调节基因来改变结构基因的功能^[23]。动物实验和临床研究均证实雄激素具有免疫抑制作用。给啮齿类动物注射睾酮,可使移植物发生排斥反应的时间明显延迟。对SLE患者的研究提示睾酮能够抑制外周血PBMC抗DNA抗体的产生,这种作用主要通过下调IL-6和抑制B细胞的活性而发生^[24]。与雌激素相反,雄激素对淋巴细胞的凋亡则起着促进作用。

雄激素能够影响细胞因子的产生。对人类的研究证实,血清脱氢异雄酮(DHEAS)水平与分泌IFN-γ细胞的活性紧密相关^[20]。DHEAS能促进IL-2的产生,减少IL-4、IL-5、IL-6的生成^[25]。因此认为雄激素能够通过促进Th1细胞因子的产生,影响细胞介导的免疫功能。但最近的研究提示睾酮也具有使机体免疫系统向Th2占优势的方向发展。Liva等^[26]利用抗CD3抗体刺激大鼠脾脏细胞,结果发现雄性大鼠组较雌性组产生较多的IL-10和IL-4,而IL-12的生成较少。进一步观察双氢睾酮治疗的雌性大鼠组结果发现脾脏细胞产生较多的IL-10,较少的IL-12,而IL-4的产生与对照组比较无差异。这一结果提示睾酮并不会影响所有细胞因子的分泌。睾酮提高IL-10,抑制IL-12产生的机制目前还不清楚。利用敲除IL-12基因的大鼠进行相关的研究发现,双氢睾酮治疗后大鼠IL-10的产生仍然提高,提示IL-10的提高并不依赖于IL-12分泌的减少,而且很有可能IL-12的降低是继发于IL-10增多。最近这种假说也得到证实,Wilcoxon等^[27]利用IL-10的抗体治疗雄性SJL大鼠,结果发现IL-12的产生可明显提高。这些研究提示睾酮可提高IL-10的产生,后

者再引起 IL-12 的降低。此外,研究还证实 CD4⁺T 细胞表面存在雄激素受体的表达,因此作者认为睾酮是通过与 CD4⁺T 细胞表面的雄激素受体直接作用提高 IL-10 基因的表达。如何理解雄激素对细胞因子产生的双向作用,目前还没有确切的说法,是否如同雌激素一样,雄激素的免疫作用也具有剂量依赖性还值得进一步探讨。

综上所述,由于性激素可以多种方式影响机体免疫系统的功能,因此,它们与许多自身免疫性疾病的发生、发展在不同性别中表现的差异有密切的关系。深入研究性激素和免疫系统两者之间的相互作用,将有利于我们对自身免疫性疾病发病机制的认识,为临床寻找切实、有效的治疗新途径提供一定的理论基础。

参 考 文 献

- 刘俊锋,刘志红,黎磊石. 男性狼疮性肾炎的临床和病理. 肾脏病与透析肾移植杂志, 1997, 6: 319
- Davis HL, Michel M, Whalen RG. DNA-based immunization induces continuous secretion of hepatitis B surface antigen and high levels of circulating antibody. *Hum Mol Genet*, 1993, 2: 1 847
- Curran EM, Berghaus LJ, Vernetti NJ *et al.* Natural killer cells express estrogen receptor-alpha and estrogen receptor-beta and can respond to estrogen via a non-estrogen receptor-alpha-mediated pathway. *Cell Immunol* 2001, 214: 12
- Suenaga R, Evans MJ, Mitamura K *et al.* Peripheral blood T cells and monocytes and B cell lines derived from patients with lupus express estrogen receptor transcripts similar to those of normal cells. *J Rheumatol*, 1998, 25: 1 305
- Benten WP, Stephan C, Wunderlich F. B cells express intracellular but not surface receptors for testosterone and estradiol. *Steroids*, 2002, 67: 647
- Olsen NJ, Kovacs WJ. Effects of androgens on T and B lymphocyte development. *Immunol Res*, 2001, 23: 281
- Uotinen N, Puustinen R, Pasanen S *et al.* Distribution of progesterone receptor in female mouse tissues. *Gen Comp Endocrinol*, 1999, 115: 429
- Tsokos GC, Wong HK, Enyedy EJ *et al.* Immune cell signaling in lupus. *Curr Opin Rheumatol*, 2000, 12: 355
- Karpuzoglu-Sahin E, Zhi-Jun Y, Lengi A *et al.* Effects of long-term estrogen treatment on IFN-gamma, IL-2 and IL-4 gene expression and protein synthesis in spleen and thymus of normal C57BL/6 mice. *Cytokine*, 2001, 14: 208
- Ansar AS, Hissong BD, Verthelyi D *et al.* Gender and risk of autoimmune disease: possible role of estrogenic compounds. *Environ Health Perspect*, 1999, 107: 681
- Masuzawa T, Miyaura C, Onoe Y *et al.* Estrogen deficiency stimulates B cell lymphopoiesis in mouse bone marrow. *J Clin Invest*, 1994, 94: 1 090
- Lahita RG, Bradlow HL, Fishman J *et al.* Abnormal estrogen and androgen metabolism in the human with systemic lupus erythematosus. *Am J Kidney Dis*, 1982, 21(Suppl.1): 206
- Bynoe MS, Grimaldi CM, Diamond B. Estrogen up-regulates Bcl-2 and blocks tolerance induction of naive B cells. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97: 2 703
- Gilmore W, Weiner LP, Correale J. Effect of estradiol on cytokine secretion by proteolipid protein specific T cell clones isolated from multiple sclerosis patients and normal control subjects. *J Immunol*, 1997, 158: 446
- Pottratz ST, Bellido T, Mocharla H *et al.* 17β-Estradiol inhibits expression of human interleukin-6 promoter-reporter constructs by a receptor-dependent mechanism. *J Clin Invest*, 1994, 93: 944
- Dayan M, Zinger H, Kalush F *et al.* The beneficial effects of treatment with tamoxifen and anti-estradiol antibody on experimental systemic lupus erythematosus are associated with cytokine modulations. *Immunology*, 1997, 90: 101
- Verthelyi D, Ansar AS. Estrogen increases the number of plasma cells and enhances their autoantibody production in nonautoimmune C57BL/6 mice. *Cell Immunol*, 1998, 189: 125
- Klinman DM. Regulation of B cell activation in autoimmune mice. *Clin Immunol Immunopathol*, 1989, 530: 234
- Kanda N, Tamaki K. Estrogen enhances immunoglobulin production by human PBMCs. *J Allergy Clin Immunol*, 1999, 103: 282
- Verthelyi D, Klinman DM. Sex hormone levels correlate with the activity of cytokine-secreting cells in vivo. *Immunology*, 2000, 100: 384
- Van VR, McGuire JL. Estrogen, progesterone, and testosterone: Can they be used to treat autoimmune diseases? *Cleve Clin J Med*, 1994, 61: 276
- Stoeger Z, Chiorazzi N, Lahita R. Regulation of the immune response by sex hormones. *J Immunol*, 1988, 141: 91
- Lubahn DB, Joseph DR, Sar M *et al.* The human androgen receptor: Complementary deoxyribonucleic acid cloning, sequence analysis and gene expression in prostate. *Mol Endocrinol*, 1988, 2: 1 265
- Kanda N, Tsuchida T, Tamaki K. Testosterone suppresses anti-DNA antibody production in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 1997, 40: 1 703
- Daynes RA, Dudley DJ, Araneo BA. Regulation of murine lymphokine production in vivo: II. Dehydroepiandrosterone is a natural enhancer of interleukin 2 synthesis by helper T cells. *Eur J Immunol*, 1990, 20: 793
- Liva SM, Voskuhl RR. Testosterone acts directly on CD4⁺T lymphocytes to increase IL-10 production. *J Immunol*, 2001, 167: 2 060
- Wilcoxon SC, Kirkman E, Dowdell KC *et al.* Gender-dependent IL-12 secretion by APC is regulated by IL-10. *J Immunol*, 2000, 164: 6 237

[收稿日期] 2003-03-26

(本文编辑 石 徒 丁大洪)