

滤泡调节性 T 细胞与 HIV 感染疾病进展关系的研究

姜太一, 汪雯, 粟斌, 张彤, 吴昊

[摘要] **目的** 探索滤泡调节性 T 细胞 (follicular regulatory T cell, TFR) 与 HIV 感染疾病进展的关系。**方法** 以 2015—2019 年于首都医科大学附属北京佑安医院门诊就诊及随访的 47 例 HIV 感染者 (包括未治疗 HIV 感染者, 抗病毒治疗免疫重建成功和免疫重建失败患者) 及 9 例健康体检者作为研究对象。将 $CD3^+CD4^+CXCR5^+Foxp3^+$ 的细胞定义为 TFR, 分析 HIV 感染者 TFR 数量与 $CD4^+$ T 细胞计数及病毒载量的关系, 并对比分析不同疾病阶段患者 TFR 数量的差异。**结果** TFR 数量与 $CD4^+$ T 细胞计数呈正相关 ($r=0.567$, $P=0.002$), 与 HIV 载量呈负相关 ($r=-0.394$, $P=0.042$); HIV 感染者的 TFR 数量明显低于健康体检者, 免疫重建成功的患者 TFR 数量明显高于免疫重建失败的患者。**结论** 随着 HIV 感染疾病的进展, TFR 数量逐渐降低。

[关键词] 人免疫缺陷病毒; 滤泡调节性 T 细胞; $CD4^+$ T 细胞; 病毒载量

[中国图书资料分类号] R512.91

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-8134(2020)04-0331-03

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2020.04.010

Relationship between follicular regulatory T cells and HIV infection progression

JIANG Tai-yi, WANG Wen, SU Bin, ZHANG Tong, WU Hao*

Center for Infectious Diseases, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, 100069, China

*Corresponding author, E-mail: whdoc@ccmu.edu.cn

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between follicular regulatory T cells (TFR) and the progression of HIV infection. **Methods** A total of 47 HIV-infected patients (including untreated HIV-infected patients, patients with successful immune reconstruction, patients with unsuccessful immune reconstruction after antiretroviral therapy) who were treated and followed up at Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University from 2015 to 2019 and 9 healthy physical examinees were enrolled in this study. The $CD3^+CD4^+CXCR5^+Foxp3^+$ cells were defined as TFR. The relationship of the absolute number of TFR with the $CD4^+$ T cell count and viral load of HIV-infected patients was analyzed, and the differences in the number of TFR at different disease stages were compared and analyzed. **Results** The TFR count was positively correlated with $CD4^+$ T cell count ($r=0.567$, $P=0.002$), and negatively correlated with HIV viral load ($r=-0.394$, $P=0.042$); TFR levels of HIV-infected patients were significantly lower than that of healthy physical examinees. Patients with successful immune reconstruction had a significantly higher TFR level than patients with unsuccessful immune reconstruction. **Conclusions** As HIV infection progresses, TFR level gradually decreases.

[Key words] HIV; follicular regulatory T cell; $CD4^+$ T cell; viral load

近年来, 研究发现了一种新的 T 细胞亚群——滤泡调节性 T 细胞 (follicular regulatory T cell, TFR)。TFR 首先在小鼠中被发现^[1-3], 后研究者在猴子及人类中也对其进行了一些研究^[4-5]。TFR 主要存在于生发中心, 具有滤泡辅助性 T 细胞 (follicular helper T cell, TFH) 和滤泡细胞毒性 T 细胞 (follicular cytotoxic T cell, TFC) 的一些特征, TFR 也可通过表达生发中心 B 细胞区归巢 C-X-C 趋化因子受体 5 型 (C-X-C chemokine receptor 5, CXCR5) 以及失去 T 细胞区 - 归巢趋化因子受体 C-C 趋化因子受体 7 型 (C-C chemokine receptor type 7, CCR7) 而进入生发中心^[4-6]。目前研究认为 TFR 来源于胸腺来源的调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg), 与 TFH 和 Treg

有以下共同特征: 表达转录因子 FOXP3、IL-2 受体 α 链 CD25 及趋化因子受体 CXCR5^[4-5]。此外, TFR 在 IL-21 和 IL-4 等细胞因子的帮助下可影响 B 细胞成熟^[8-9]。但 TFR 在淋巴组织内的何处以及在何种细胞群上如何发挥调节功能仍不清楚。

最初在猴子方面的研究表明, TFH 不表达 C-C 趋化因子受体 5 型 (C-C chemokine receptor type 5, CCR5)^[5], 因此认为 TFH 不易被 HIV 感染。但在人体的研究表明, TFH 中 CCR5 表达的比例很高^[9-10], 由于 CCR5 是 HIV 感染靶细胞重要的辅助受体, 因此, 在人体中 TFH 容易被 HIV 感染。TFR 是 TFH 的一个亚群, TFR 其表面表达 CCR5 和 CD4 的水平均较高, 因此, 对 HIV 高度敏感, 也易被 HIV 感染。对于 HIV 感染者, TFR 与 HIV 感染疾病进展的关系尚无报道。因此, 本研究中对 TFR 与 HIV 感染疾病进展的关系进行了系统分析, 现总结如下。

[基金项目] “十三五”国家“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项 (2018ZX10301407-005, 2018ZX10302103-001-003); 艾滋病研究北京市重点实验室 (BZ0089)

[作者单位] 100069, 首都医科大学附属北京佑安医院感染中心 (姜太一、汪雯、粟斌、张彤、吴昊)

[通信作者] 吴昊, E-mail: whdoc@ccmu.edu.cn

1 对象与方法

1.1 对象 将 2015—2019 年于首都医科大学附属北京佑安医院门诊就诊及随访的 47 例 HIV 感染者纳入本研究。因目前的 HIV 感染者以男性为主，入组的所有患者均为男性，包括新就诊未治疗的患者 27 例、免疫重建成功的患者（有效抗病毒治疗 2 年

以上，CD4⁺ T 细胞计数恢复到 350 个/μl 以上）12 例、免疫重建失败的患者（有效抗病毒治疗 2 年以上，CD4⁺ T 细胞计数持续在 250 个/μl 以下）8 例。排除合并 HBV、HCV 感染者及结核患者。另选取我院 9 例与上述患者性别、年龄等相匹配的健康体检者作为对照。研究对象一般情况见表 1。本研究已获得医院伦理委员会批准，研究对象及家属签署同意书。

表 1 研究对象一般情况
Table 1 General information of enrolled subjects

指标	未治疗患者			免疫重建成功的患者 (n=12)	免疫重建失败的患者 (n=8)	对照组 (n=9)
	CD4 ⁺ T 细胞计数 ≤ 200 个/μl(n=5)	200 个/μl < CD4 ⁺ T 细胞 计数 ≤ 350 个/μl(n=11)	CD4 ⁺ T 细胞计数 > 350 个/μl(n=11)			
年龄 (岁)	31(20 ~ 62)	32(22 ~ 62)	28(20 ~ 37)	33(22 ~ 50)	34(25 ~ 52)	32(25 ~ 48)
CD4 ⁺ T 细胞 计数 (个/μl)	120(30 ~ 192)	280(210 ~ 345)	450(360 ~ 760)	465(355 ~ 772)	150(45 ~ 198)	810(650 ~ 1020)
病毒载量 (copies/ml)	78260(17500 ~ 1320000)	44394(5135 ~ 345000)	30110(3541 ~ 121715)	检测不到	检测不到	未检测

1.2 病毒载量及 CD4⁺ T 细胞计数检测 病毒载量检测采用罗氏 cobas TaqMan 病毒载量检测系统进行，CD4⁺ T 细胞计数利用 BD 公司的检测试剂盒进行检测。

1.3 流式检测 采集研究对象外周血 10 ml，用密度梯度离心法分离患者的外周血单个核细胞（peripheral blood mononuclear cell, PBMC）。PBMC 先进行表型 CD3-PerCP、CD4-FITC 及 CXCR5-APC 染色，破膜后再进行 Foxp3-PE 染色。将 CD3⁺CD4⁺CXCR5⁺Foxp3⁺ 的细胞定义为 TFR，用 TFR 的数量占 CD4⁺ T 细胞数量的比值乘以 CD4⁺ T 细胞的量获得。流式抗体包括 CD3-PerCP，CD4-FITC，CXCR5-APC 及 Foxp3-PE，所有抗体均购自 eBioscience 公司。

1.4 统计学处理 利用 SPSS 25.0 软件对数据进

行统计学分析，绘图采用 GraphPad Prism 8.0 软件进行绘制。一般资料采用描述性分析，计量资料用中位数（最小值，最大值）表示。多组之间的比较用单因素方差分析，2 组间比较采用 Mann–Whitney *U* 检验。相关性分析采用 Spearman 相关性分析来进行。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 TFR 数量与 HIV 感染疾病进展的相关性分析 CD4⁺ T 细胞计数和 HIV 载量是反映 HIV 感染疾病进程的两个重要指标。对 TFR 与 CD4⁺ T 细胞计数和病毒载量的相关性进行分析，结果表明 TFR 数量与 CD4⁺ T 细胞计数呈正相关（*r*=0.567，*P*=0.002）（图 1A），TFR 数量与 HIV RNA 载量呈负相关（*r*=−0.394，*P*=0.042）（图 1B）。

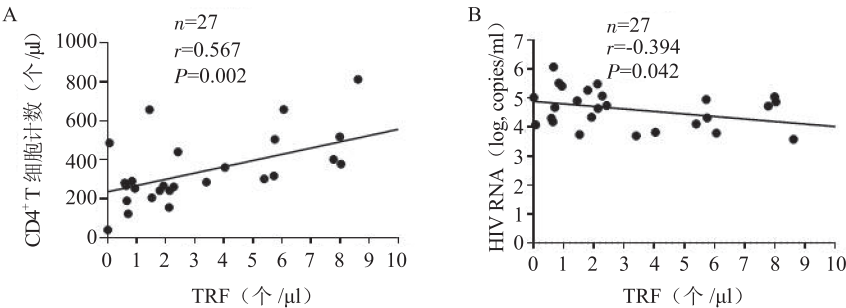


图 1 TFR 与 CD4⁺ T 细胞计数及病毒载量的相关性分析
Figure 1 Correlation of TFR with CD4⁺ T cell count and viral load

2.2 不同组 HIV 感染者 TFR 数量的比较 根据 CD4⁺ T 细胞计数水平，将新就诊未治疗的患者分为 CD4⁺ T 细胞计数 ≤ 200 个/μl 组（*n*=5），200 个/μl < CD4⁺ T 细胞计数 ≤ 350 个/μl 组（*n*=11）及 CD4⁺ T 细胞计数 > 350 个/μl 组（*n*=11），结果发现 CD4⁺ T 细胞计数较高的组其 TFR 的值也较

高（图 2）。根据 CD4⁺ T 细胞计数恢复的程度、治疗效果不同，将治疗随访患者分为免疫重建成功组（*n*=12）和免疫重建失败组（*n*=8）。结果发现免疫重建成功的患者 TFR 的数量明显高于免疫重建失败的患者（图 3）。所有患者的 TFR 数量均低于对照组（图 3）。

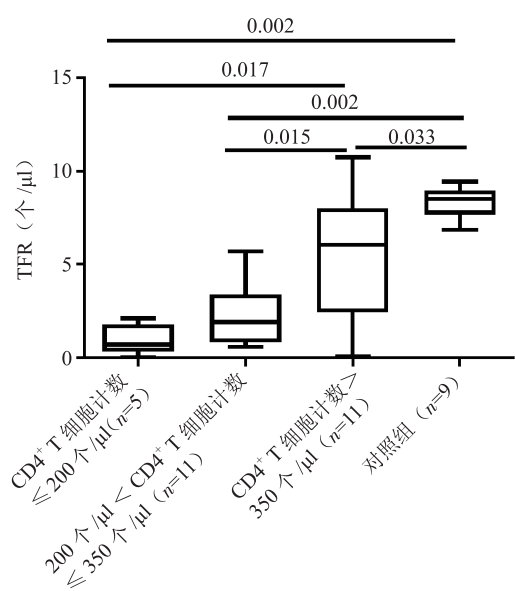


图 2 未治疗患者中不同 CD4⁺ T 细胞计数组之间的 TFR 比较

$F=18.272, P < 0.0001$

Figure 2 Comparison of TFR among different groups of CD4⁺ T cell count in untreated patients

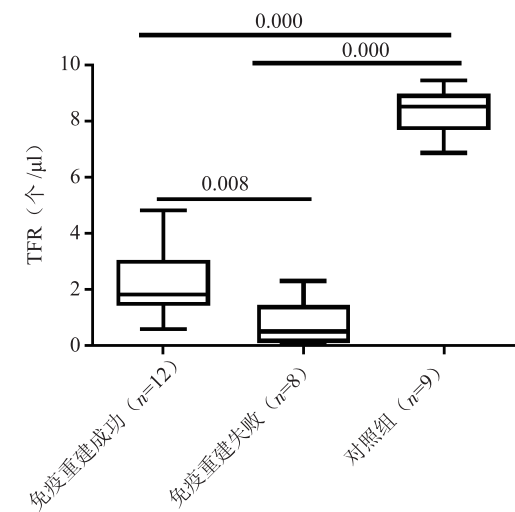


图 3 免疫重建成功与失败患者 TFR 比较

$F=143.615, P < 0.0001$

Figure 3 Comparison of TFR in patients with successful versus unsuccessful immune reconstitution

3 讨 论

TFR 是近年新发现的细胞群，既具有 TFH 的一些特性，也具有 Treg 的一些特性。有文献报道 TFR 高表达 CCR5，对 HIV 高度敏感^[10]。既往对 TFR 的研究多基于小鼠及猴子模型^[5]，本研究利用 TFR 的一些表型特征及流式技术定义 TFR，首先对 TFR 数量与 HIV 感染疾病进展的关系进行了研究，结果发现随着 HIV 感染疾病的进展，TFR

数量逐渐降低。这可能与 TFR 高表达 HIV 感染所需要的受体 CD4 及 CCR5 有关，这种随着 HIV 感染疾病进展 TFR 数量降低的现象也与 TFR 对 HIV 高度敏感的报道一致^[10]。

本研究虽对 TFR 与 HIV 感染疾病进展的关系进行了分析，但相对比较粗浅，存在一定的局限性。首先，TFR 主要存在于淋巴滤泡中，外周血中的情况不能代表淋巴滤泡中的情况，本研究并未对淋巴结中 TFR 的情况进行研究；其次，在 HIV 感染中，TFR 对 B 细胞的作用^[9]及对中和抗体的作用是很有意义的部分，本研究没有涉及，后续将进一步进行相关的研究；再次，TFH 是 HIV 潜伏的重要靶标，而 TFR 是否为 HIV 潜伏的靶标值得进一步探讨。

总之，本研究对 HIV 感染过程中 TFR 与 HIV 感染疾病进展的关系进行了研究，发现随着疾病的进展，TFR 的数量是逐渐降低的，为证明 TFR 是 HIV 感染的细胞提供了进一步的数据支持。TFR 的特性决定了其在 HIV 感染中具有重要的意义，后续还要针对该细胞在 HIV 感染中的作用做更多的研究。

【参考文献】

[1] Linterman MA, Pierson W, Lee SK, *et al.* Foxp3 follicular regulatory T cells control the germinal center response [J]. *Nat Med*, 2011, 17(8):975-982.

[2] Wollenberg I, Agua-Doce A, Hernández A, *et al.* Regulation of the germinal center reaction by Foxp3 follicular regulatory T cells [J]. *J Immunol*, 2011, 187(9):4553-4560.

[3] Chung Y, Tanaka S, Chu F, *et al.* Follicular regulatory T cells expressing Foxp3 and Bcl-6 suppress germinal center reactions[J]. *Nat Med*, 2011, 17(8):983-988.

[4] Wallin EF, Jolly EC, Suchánek O, *et al.* Human T-follicular helper and T-follicular regulatory cell maintenance is independent of germinal centers [J]. *Blood*, 2014, 124(17):2666-2674.

[5] Miles B, Miller SM, Folkvord JM, *et al.* Follicular regulatory T cells impair follicular T helper cells in HIV and SIV infection [J]. *Nat Commun*, 2015, 6:8608. DOI: org/10.1038/ncomms9608.

[6] Vaccari M, Franchini G. T cell subsets in the germinal center: lessons from the macaque model [J]. *Front Immunol*, 2018. DOI: 10.3389/fimmu.2018.00348.

[7] Ismail S, Andrea JR, Laura AV, *et al.* Spatial distribution and function of T follicular regulatory cells in human lymph nodes [J]. *J Exp Med*, 2018, 215(6):1531-1542.

[8] Li J, Lu E, Yi T, *et al.* EBI2 augments Tfh cell fate by promoting interaction with IL-2-quenching dendritic cells [J]. *Nature*, 2016, 533(7601):110-114.

[9] Laidlaw BJ, Lu Yisi, Amezcua RA, *et al.* Interleukin-10 from CD4⁺ follicular regulatory T cells promotes the germinal center response [J]. *Sci Immunol*, 2017, 2(16). DOI: 10.1126/sciimmunol.aan4767.

[10] Miller SM, Miles B, Guo K, *et al.* Follicular regulatory T cells are highly permissive to R5-tropic HIV-1 [J]. *J Virol*, 2017, 91(17). DOI: 10.1128/JVI.00430-17.

(2020-05-14 收稿 2020-07-15 修回)
(本文编辑 闫晶晶)