

论著·基础研究

葡萄糖对小鼠 CD4⁺ T 细胞分化的影响和机制初探

陈冬平, 伍宁波, 苏 冰, 钮晓音

上海交通大学医学院, 上海市免疫学研究所, 上海 200025

[摘要] **目的**·探讨葡萄糖对小鼠 CD4⁺ T 细胞分化的影响。**方法**·小鼠初始 CD4⁺ T 细胞在调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg)、Th1、Th17 和 Th2 分化条件下, 经不同浓度的葡萄糖处理 5 d 后, 利用流式细胞术检测细胞分化的比例, 实时荧光定量 PCR 检测相关细胞因子和转录因子的基因表达水平。**结果**·与无糖组相比, 在 Treg 和 Th2 分化的条件下, 随着葡萄糖浓度升高, Treg 和 Th2 比例增高, 其关键转录因子 Foxp3 (forkhead box P3)、Gata3 (GATA binding protein 3) 与主要细胞因子转化生长因子-β、白介素-4 (interleukin-4, IL-4) 和 IL-13 的基因水平增加; 而随着葡萄糖浓度升高, Th1 和 Th17 细胞比例则降低, 其相关转录因子 Tbx21 (T-box transcription factor 21) 和 RORC (RAR related orphan receptor C), 以及细胞因子干扰素-γ、IL-17A、IL-17F、IL-22 和细胞因子受体 IL-23R 的基因表达下降。**结论**·葡萄糖能促进 Treg 和 Th2 体外分化, 而抑制 Th1 与 Th17 分化。

[关键词] 葡萄糖; CD4⁺ T 细胞; 调节性 T 细胞; Th1 细胞; Th17 细胞; Th2 细胞; 体外分化

[DOI] 10.3969/j.issn.1674-8115.2019.08.003 **[中图分类号]** R392.12 **[文献标志码]** A

Primary study on the effect of glucose on mouse CD4⁺ T cell differentiation and its mechanism

CHEN Dong-ping, WU Ning-bo, SU Bing, NIU Xiao-yin

Shanghai Institute of Immunology, Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 200025, China

[Abstract] **Objective**·To study the effect of glucose on mouse CD4⁺ T cell differentiation. **Methods**·Mouse naïve CD4⁺ T cells cultured in the regulatory T cell (Treg), Th1, Th17 or Th2 differentiation condition were treated with different concentrations of glucose for 5 days. Treg, Th1, Th17 or Th2 percentages were measured by flow cytometry. Quantitative real-time PCR was used to detect the gene expressions of related cytokines and transcriptional factors. **Results**·The proportions of Treg and Th2 as well as the gene expressions of transforming growth factor-β, interleukin-4 (IL-4) and IL-13, and transcriptional factors, Foxp3 (forkhead box P3) and Gata3 (GATA binding protein 3), were increased significantly with the treatment of increasing concentration of glucose. On the contrary, with the glucose treatment, the percentages of Th1 and Th17 were reduced, and the gene expressions of the related cytokines and cytokine receptors, such as interferon-γ, IL-17A, IL-17F, IL-22 and IL-23R, and the related transcriptional factors, Tbx21 (T-box transcription factor 21) and RORC (RAR related orphan receptor C), were decreased consistently. **Conclusion**·Glucose promotes Treg and Th2 differentiation while inhibits Th1 and Th17 differentiation *in vitro*.

[Key words] glucose; CD4⁺ T cell; regulatory T cell (Treg); Th1 cell; Th17 cell; Th2 cell; *in-vitro* differentiation

CD4⁺ T 细胞在介导多种病原体引发的适应性免疫方面发挥着重要作用, 并参与自身免疫病、超敏反应以及肿瘤等疾病的发生发展^[1-2]。CD4⁺ T 细胞的分化状态主要由环境因素和它们的转录因子所决定^[1], 在不同细胞因子的刺激下, CD4⁺ T 细胞可分化为不同的效应 T 细胞, 包括 Th1、Th2、Th17 等亚群, 产生不同类型的免疫反应。调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 是维持自我耐受的中心, 既可以介导机体的外周免疫耐受, 又可以介导机体对自身抗原的耐受。目前的观点认为, 效应 T 细胞和 Treg

在功能和分化过程中相互遏制、保持动态平衡, 共同维持机体的免疫稳态。如果这种平衡被打破, 就会引起免疫失衡, 从而导致免疫相关疾病的发生^[1-3]。

葡萄糖是生命体所需能量的主要来源, 其在免疫细胞的各类活动中也至关重要。当病原体出现时, 免疫系统必须迅速对其作出反应, 包括免疫细胞消耗大量能量, 并合成大量细胞因子等; 当病原体消除后, 免疫细胞相应发生凋亡, 减少能量的利用和生物合成^[4-5]。有研究证明, 葡萄糖与免疫细胞, 特别是 T 淋巴细胞的生理功能

[基金项目] 国家自然科学基金 (81871269); 上海市卫生和计划生育委员会科研课题面上项目 (201640137) (National Natural Science Foundation of China, 81871269; Scientific Research Project of Shanghai Municipal Commission of Health and Family Planning, 201640137)。

[作者简介] 陈冬平 (1993—), 女, 硕士生; 电子信箱: chenduoduo77@163.com。

[通信作者] 钮晓音, 电子信箱: niuxiaoyin@163.com。



息息相关。例如, 葡萄糖依赖的代谢对 CD8⁺ T 细胞产生 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 至关重要; 高血糖能促进 CD4⁺ T 细胞上调生长因子、胰岛素受体等表达; 葡萄糖通过调节甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 与 IFN- γ mRNA 的结合, 从而影响 CD4⁺ T 细胞的效应功能^[6-8]; 葡萄糖通过 Notch 信号通路调控记忆 CD4⁺ T 细胞的存活^[9]。在某些疾病中, 葡萄糖代谢异常影响 T 细胞的功能。在系统性红斑狼疮 (systemic lupus erythematosus, SLE) 小鼠模型中, 葡萄糖可促进自身反应性辅助性滤泡细胞的存活, 加剧自身抗体的产生^[10]; 阻断氧化磷酸化途径可以抑制 CD4⁺ T 细胞产生 IFN- γ 和 IL-17, 最终减缓 SLE 病情进展^[11]。在慢性 HIV 感染中, CD4⁺ T 细胞表达葡萄糖转运蛋白增多以及葡萄糖代谢活动增加, 从而影响其自身的功能^[12]; 近年研究^[13]发现, 类风湿关节炎患者 T 细胞的葡萄糖代谢异常, 导致 Th1 和 Th17 分化增多, 加剧效应 T 细胞与 Treg 的失衡。然而, 葡萄糖对 Th 细胞亚群的分化调控作用目前尚不清楚。

在本研究中, 我们将探索葡萄糖对 Treg、Th1、Th17 与 Th2 分化的影响, 并初步探究其中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 近交系动物 C57BL/6, 雄性, 8 ~ 12 周龄, 饲养于上海交通大学医学院实验动物中心屏障环境中。生产许可证号为 SCXK (沪) 2018-0007, 使用许可证号为 SYXK (沪) 2018-0027。实验操作符合上海交通大学医学院动物伦理相关规范。

1.1.2 主要试剂 抗小鼠 CD4-FITC 标记抗体、抗小鼠 CD62L-FITC 标记抗体、抗小鼠 CD25-APC 标记抗体、抗小鼠 IFN- γ -APC 标记抗体、抗小鼠 CD44-APC 标记抗体、抗小鼠 IL-17A-PE 标记抗体、抗小鼠 Foxp3 (forkhead box P3)-PE 标记抗体、抗小鼠 CD25-PE 标记抗体、抗小鼠 CD4-Percpcy5.5 标记抗体、抗小鼠 IL-4-PE-cy7 抗体、抗小鼠 CD3 抗体、抗小鼠 CD28 抗体、抗小鼠 IFN- γ 抗体、抗小鼠 IL-4 抗体、细胞刺激剂、破膜液 (eBioscience, 美国), 葡萄糖 (Sigma, 美国), TRIzol (Invitrogen, 美国), 反转录试剂盒 PrimeScrip RT reagent Kit (TaKaRa, 日本), L-谷氨酰胺、非必需氨基酸、丙酮酸钠、细胞培养添加剂 HEPES、RPMI 1640 无血清基本培养基以及胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS) (Gibco, 美国), 青霉素/链霉素 (生工, 中国), 转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)、IL-2、IL-12、IL-6、IL-23、IL-

1 β 、IL-4 (PeproTech, 美国)。

1.1.3 主要仪器 超净工作台、高速台式离心机、细胞培养箱 (Thermo, 美国), FACSCanto II 流式细胞仪、FACS Aria II 流式分选仪 (BD, 美国), 倒置显微镜 (Nikon, 日本), 实时定量 PCR 仪 (ABI, 日本), 酶标检测仪 (Molecular Device, 美国), 恒温水浴锅 (国华电器, 中国), 低温高速离心机 (Hettich, 德国)。

1.2 实验方法

1.2.1 小鼠初始 CD4⁺ T 细胞的获取 小鼠脾脏和淋巴结置于 70 μ m 细胞滤网, 用 1 mL 注射器内芯轻柔研磨, 用含有 2% FBS 的 PBS 缓冲液冲洗, 收集细胞悬液。491 \times g、5 min 离心后, 加入 2 mL 红细胞裂解液, 充分混合后, 室温裂解 1 min, 加入双倍体积的 PBS 终止反应。离心弃上清液, 重悬细胞于适量的缓冲液中待用。每只小鼠脾脏和淋巴结单细胞重悬于 150 μ L 缓冲液并加入 15 μ L CD4-conjugated 磁珠 (Miltenyi Biotec, 德国), 4 $^{\circ}$ C 孵育 15 min。加入 1 mL 缓冲液洗涤, 离心 491 \times g、5 min, 弃上清液。用 500 μ L 缓冲液重悬细胞, 用 MACS (magnetic-activated cell sorting) 方法富集, 收集阳性部分即为 CD4⁺ T 细胞。将 MACS 分选的 CD4⁺ T 细胞重悬于 100 μ L 的缓冲液中, 每个样本加抗小鼠 CD62L-FITC 标记抗体、抗小鼠 CD44-APC 标记抗体、抗小鼠 CD4-Percpcy5.5 标记抗体、抗小鼠 CD25-PE 标记抗体各 0.5 μ L, 于 4 $^{\circ}$ C 孵育 30 min 后洗涤 1 次。重悬后用流式细胞分选仪分选得到 CD4⁺CD25⁻CD62L^{high}CD44^{low} 的细胞, 即为初始 CD4⁺ T 细胞。

1.2.2 T 细胞体外分化 分选得到的初始 CD4⁺ T 细胞分别用含不同浓度葡萄糖 (0、8、20 mmol/L) 的 RPMI 1640 完全培养基进行培养。抗 CD3 抗体以 1 μ g/mL 浓度包被 96 孔 U 底板, 细胞以 2×10^5 /200 μ L 的密度铺板并加入 1 μ g/mL 的抗 CD28 抗体进行培养。各种 T 细胞分化环境的细胞因子及抗体的浓度如下。① Treg: TGF- β (5 ng/mL)、IL-2 (30 U/mL)、抗 IFN- γ 抗体 (10 μ g/mL)、抗 IL-4 抗体 (10 μ g/mL)。② Th1: IL-12 (30 ng/mL)、IL-2 (60 U/mL)、抗 IL-4 抗体 (10 μ g/mL)。③ Th17: IL-6 (50 ng/mL)、TGF- β (2 ng/mL)、IL-23 (50 ng/mL)、IL-1 β (10 ng/mL)、抗 IFN- γ 抗体 (10 μ g/mL)、抗 IL-4 抗体 (10 μ g/mL)。④ Th2: IL-4 (10 ng/mL)、抗 IL-4 抗体 (10 μ g/mL)。培养 5 d 后, 进行流式细胞术及实时荧光定量 PCR (quantitative real-time PCR, qPCR) 检测。

1.2.3 流式细胞术染色 进行 Treg 染色检测时, 抗小鼠 CD4-FITC 标记抗体和抗小鼠 CD25-APC 标记抗体孵育细胞于 4 $^{\circ}$ C, 避光 30 min。洗涤后, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 1 h 进行

破膜固定。然后用抗小鼠 Foxp3-PE 标记抗体于 4 ℃ 避光孵育 1 h, 进行 Foxp3 染色。IL-17A、IFN-γ 和 IL-4 染色前需要细胞刺激剂刺激 5 h, 表面染色 CD4 后, 使用破膜固定液于 4 ℃ 避光孵育 1 h。最后用抗小鼠 IL-17A-PE 抗体、抗小鼠 IFN-γ-APC 抗体和抗小鼠 IL-4-PE-cy7 抗体于 4 ℃ 避光孵育 1 h, 洗涤后进行检测。

1.2.4 qPCR 用 TRIzol 法提取细胞的总 RNA。使用 PrimeScrip RT reagent Kit 进行反转录, 合成 cDNA, 然后进行 qPCR, 结果分析采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法。所用的引物序列 (表 1) 在 PrimerBank 搜索得到。

表 1 qPCR 所用的引物序列
Tab 1 Sequences of primers used in qPCR

基因名称	引物序列 (5'→3')
<i>Gapdh</i>	F: GAGAACTTTGGCATTGTGG R: ATGCAGGGATGATGTTCTG
<i>Tgfb1</i>	F: GCAACATGTGGAACCTACCAGA R: GACGTCAAAGACAGCCACTCA
<i>Ifny</i>	F: GATGCATTCATGAGTATTGCCAAGT R: AAGGCCCTCAGACTAC
<i>Il17a</i>	F: CTCAGAAGGCCCTCAGACTAC R: GGGTCTTCATTGCGGTGG
<i>Il17f</i>	F: CCCATGGGATTACAACTCACTC R: CACTGGGCCTCAGCGATC
<i>Il22</i>	F: CATGCAGGAGGTGGTACCTT R: CAGACGCAAGCATTTCTCAG
<i>Il23r</i>	F: TTCAGATGGGCATGAATGTTTCT R: CCAAATCCGAGCTGTTGTTCTAT
<i>Il4</i>	F: GGTCTCAACCCCCAGCTAGT R: GCCGATGATCTCTCTCAAGTGAT
<i>Il13</i>	F: CCTGGCTCTTGCTTGCCTT R: GGTCTTGTGTGATGTTGCTCA
<i>Foxp3</i>	F: GGCCCTTCTCCAGGACAGA R: GCTGATCATGGCTGGGTTGT
<i>Tbx21</i> ^①	F: CAACAACCCCTTTGCCAAAG R: TCCCCAAGCAGTTGACAGT
<i>Rorc</i> ^②	F: CACGGCCCTGGTTCTCAT R: CAGATGTTCCACTCTCCTCTTCTCT
<i>Gata3</i> ^③	F: CTCGGCCATTCTGATACATGGAA R: GGATACCTCTGCACCGTAGC

注: ① T-box transcription factor 21; ② RAR related orphan receptor C; ③ GATA binding protein 3

1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 6 软件进行统计学分析及作图。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用单因素方差分析, 两两

比较采用 Tukey 法。P<0.05 表示差异有统计学意义。

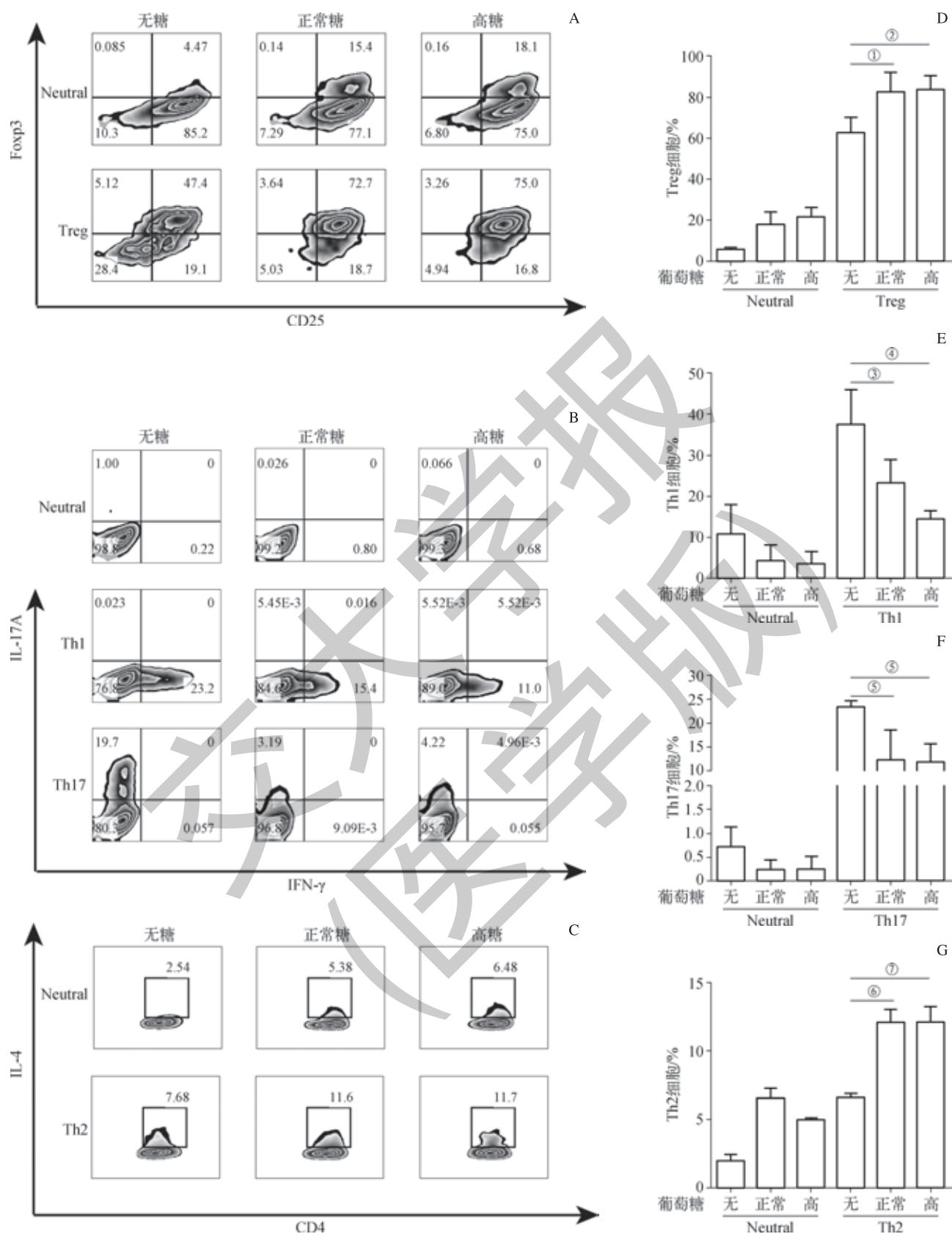
2 结果

2.1 葡萄糖对 CD4⁺ T 细胞分化的影响

分离 naive CD4⁺ T 细胞, 分别在 Treg、Th1、Th17、Th2 分化条件下, 给予不同浓度葡萄糖处理后, 流式细胞术分别检测 Treg、Th1、Th17 和 Th2 的比例。结果显示, 与无葡萄糖培养条件相比, 正常浓度和高浓度葡萄糖均可升高 Treg 比例, 且差异均具有统计学意义 (图 1A、D)。在 Th1 分化条件下, 与无糖组相比, Th1 比例在葡萄糖正常浓度组和高浓度组均下降, 并呈剂量依赖性 (图 1B、E)。在 Th17 分化条件下, 与无糖组相比, Th17 比例在葡萄糖正常浓度组和高浓度组中下降, 但正常浓度组与高浓度组差异无统计学意义 (图 1B、F)。而在 Th2 分化条件下, 葡萄糖能提高 Th2 比例, 但正常浓度组与高浓度组无统计学意义 (图 1C、G)。

2.2 葡萄糖对 T 细胞亚群相关细胞因子与细胞因子受体基因水平的影响

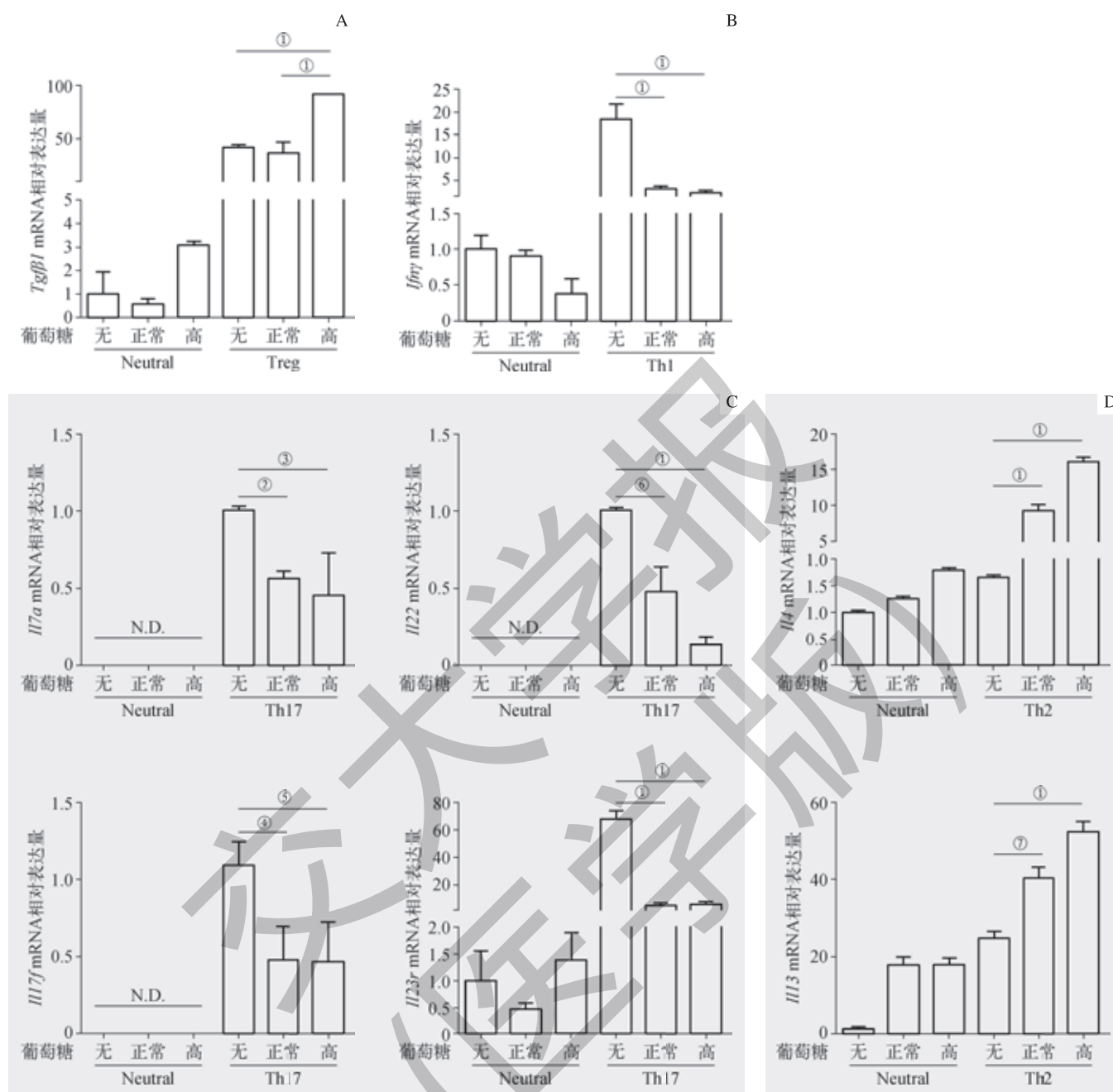
在不同分化条件下, 进一步检测 Treg 分泌的细胞因子 TGF-β, Th1 分泌的细胞因子 IFN-γ, Th17 分泌的细胞因子 IL-17A、IL-17F、IL-22 及其表达的受体 IL-23R 和 Th2 分泌的细胞因子 IL-4 与 IL-13 的基因表达情况。结果发现, 在 Treg 分化条件下, 与无糖组相比, 葡萄糖高浓度组中 *Tgfb1* mRNA 表达升高, 组间比较差异具有统计学意义 (图 2A)。在 Th1 分化条件下, 高浓度葡萄糖可抑制 IFN-γ 的基因表达, 差异具有统计学意义 (图 2B)。在 Th17 分化条件下, Th17 的特征性细胞因子 IL-17A、IL-17F、IL-22 和表面受体 IL-23R 的基因表达随着葡萄糖浓度增高而降低, 差异具有统计学意义 (图 2C)。与无糖组相比, 葡萄糖正常浓度组与高浓度组的 *Il17a* mRNA 均表达下降, 且差异具有统计学意义; 此外, *Il22* mRNA 和 *Il17f* mRNA 相对无糖组也降低, 且 IL-23R 的基因表达水平也下降。在 Neutral (未添加细胞因子) 组中, IL-17A、IL-17F、IL-22 的 mRNA 均未检测到 (图 2C)。在 Th2 分化的条件下, 葡萄糖则可促进 IL-4 和 IL-13 基因的表达, 组间比较差异具有统计学意义 (图 2D)。



注: A. Treg 分化条件下, 检测 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg 细胞的比例; B. Th17 或 Th1 分化条件下, 检测 CD4⁺IL-17A⁺Th17 细胞和 CD4⁺IFN-γ⁺Th1 细胞比例; C. Th2 分化条件下, 检测 CD4⁺IL-4⁺Th2 细胞的比例; D ~ G. 不同浓度葡萄糖处理后, T 细胞分化的流式结果统计图。Neutral: 未添加细胞因子组。①[⊗]*P*=0.006, ②[⊗]*P*=0.004, ③[⊗]*P*=0.017, ④[⊗]*P*=0.000, ⑤[⊗]*P*=0.001, ⑥[⊗]*P*=0.009, ⑦[⊗]*P*=0.008

图 1 葡萄糖促进 Treg 和 Th2 的分化而抑制 Th1 和 Th17 的分化

Fig 1 Glucose promoting Treg and Th2 differentiation and inhibiting Th1 and Th17 differentiation



注: A. Treg 分化条件下, 检测细胞因子 TGF- β 的基因表达水平; B. Th1 分化条件下, 检测 IFN- γ 的基因表达水平; C. Th17 分化条件下, 检测 IL-17A、IL-17F、IL-22 以及 IL-23R 的基因表达水平; D. Th2 分化条件下, 检测 IL-4 以及 IL-13 的基因表达水平。N.D. 表示 not detected, 未检测到; ① $P=0.000$, ② $P=0.010$, ③ $P=0.003$, ④ $P=0.009$, ⑤ $P=0.008$, ⑥ $P=0.002$, ⑦ $P=0.004$

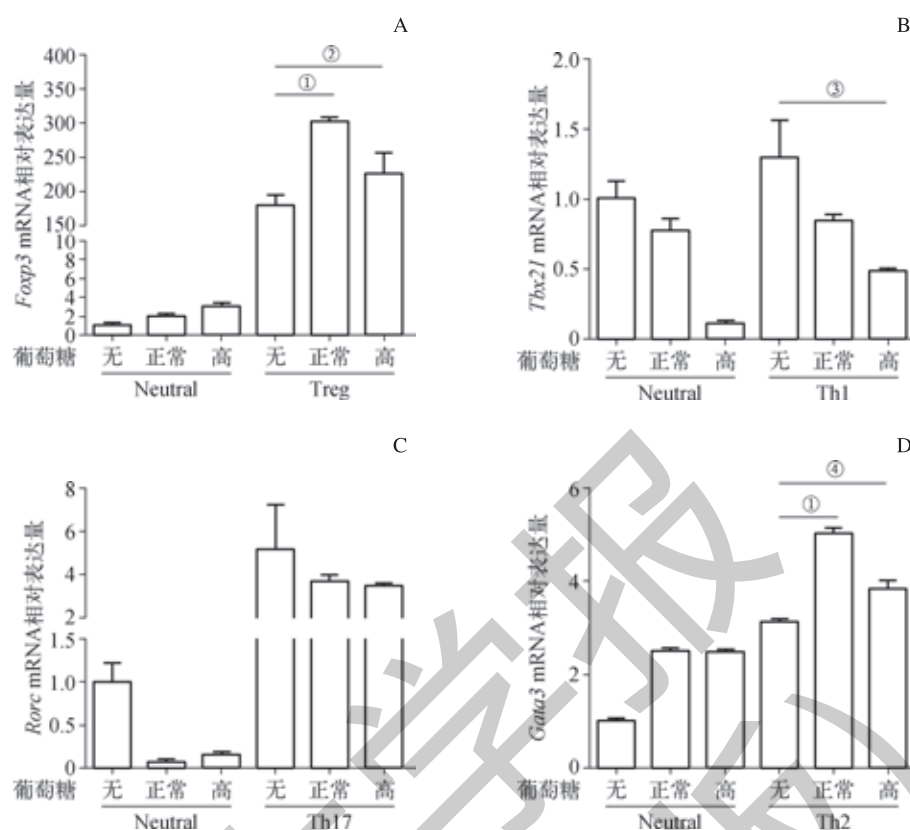
图2 葡萄糖促进 Treg 和 Th2 相关细胞因子而抑制 Th1 和 Th17 相关细胞因子与细胞因子受体的基因表达

Fig 2 Glucose promoting the gene expressions of Treg and Th2 related cytokine and inhibiting the gene expressions of Th1 and Th17 related cytokines and cytokine receptors

2.3 葡萄糖对 T 细胞亚群相关转录因子的影响

为进一步探索葡萄糖对 T 细胞亚群分化的影响机制, 我们用 qPCR 分别检测了 Treg、Th1、Th17 和 Th2 分化的关键转录因子 Foxp3、Tbx21、RORC 和 Gata3 的基因表达情况。结果发现, 在 Treg 分化的条件下, 与无糖组相比, 葡萄糖正常浓度组和高浓度组中 Foxp3 mRNA 的表达水平均增高, 且差异具有统计学意义 (图 3A)。在 Th1 分化的

条件下, 葡萄糖可降低 Th1 关键转录因子 Tbx21 的 mRNA 表达 (图 3B)。Th17 的关键转录因子 RORC 在葡萄糖存在情况下表达略有降低 (图 3C)。Th2 分化条件下, 与无糖组相比, 葡萄糖正常浓度组和高浓度组中 Gata3 的基因表达明显提高 (图 3D)。因此, 结果提示, 葡萄糖通过调控 Treg、Th1、Th17 和 Th2 的关键转录因子 Foxp3、Tbx21、RORC 和 Gata3 的基因表达而影响 CD4⁺ T 细胞亚群的分化。



注: A. Treg 分化条件下, 检测 Foxp3 的基因表达水平; B. Th1 分化条件下, 检测 Tbx21 的基因表达水平; C. Th17 分化条件下, 检测 RORC 的基因表达水平; D. Th2 分化条件下, 检测 Gata3 的基因表达水平。① $P=0.000$, ② $P=0.002$, ③ $P=0.006$, ④ $P=0.001$

图 3 葡萄糖促进 Treg 和 Th2 关键转录因子 Foxp3 和 Gata3 的基因水平而抑制 Th1 和 Th17 关键转录因子 Tbx21 和 RORC 的基因水平

Fig 3 Glucose promoting the gene expression of Foxp3 in Treg and Gata3 in Th2 and inhibiting Tbx21 in Th1 and RORC in Th17

3 讨论

CD4⁺ T 细胞作为适应性免疫系统的重要组成部分, 是免疫系统的主要协调者和效应器, 其激活、扩增或耗竭等状态与机体的炎症发生发展密切相关。当机体发生感染时, 针对入侵病原体的 CD4⁺ T 细胞接收抗原提呈细胞的信号而被激活, 并在不同细胞因子的作用下向不同亚群分化, 并发挥抗菌效应, 从而维持机体的稳态^[1]。Th1 细胞可分泌细胞因子 IFN- γ , 介导细胞免疫应答; Th2 主要分泌 IL-4 等细胞因子参与抗寄生虫感染, 并介导体液免疫。Th1 和 Th2 细胞既互相拮抗又互相调节; 据报道, Th1/Th2 平衡的失调与肿瘤、自身免疫病的发生发展密切相关^[14]。Th17 细胞主要分泌 IL-17A、IL-22 等, 这些细胞因子除了具抗菌作用, 还能够促进炎症的发生发展。Treg 细胞作为一类免疫负调细胞, 具有抑制炎症的效果, 能与效应 T 细胞相互制约, 且存在动态平衡; 一旦平衡被打破, 即可导致疾病的发生, 例如糖尿病、肿瘤等疾病均表现为效应 T 细胞与 Treg 不同程度的失衡^[15]。

近年来, 研究发现, 营养物质对于机体的免疫系统或

免疫细胞存在影响。如维生素 D 摄取不足会引起多发性硬化患病率升高^[16]; 高盐能够诱导 Th17 产生且抑制 Treg 的功能, 并与肠道疾病或者多发性硬化等疾病具有相关性^[17]; 甘露糖通过促进 Treg 的分化从而促进免疫耐受^[18]。值得关注的是, 葡萄糖作为最主要的能量来源之一, 普遍存在于机体体内, 影响着细胞的活化、增殖、分化等生理行为。口服等量葡萄糖的糖尿病患者与正常人相比, CD4⁺ 比例增多而 CD8⁺ 比例下降, 暗示葡萄糖影响循环 T 淋巴细胞亚群的平衡^[19]。目前已报道, 葡萄糖对于维持 CD8⁺ T 细胞的效应功能必不可少; 其能够促进 CD4⁺ T 细胞的存活和增殖, 同时也能促进 Th1 的效应功能^[6-7]。

然而, 葡萄糖对 CD4⁺ T 细胞分化的调控报道较少。有研究^[20-21]发现, 无论是糖尿病患者还是高血糖小鼠模型体内, 均有较高比例的 Treg; 且多数报道认为, Treg 细胞虽有增高, 但其免疫调节功能存在缺陷。我们的体外实验结果表明, 葡萄糖可促进 Treg 分化; 高糖环境中, 其可直接上调 Treg 转录因子 Foxp3 的表达, 从而促进 Treg 分化及其分泌的细胞因子 TGF- β 的表达。研究葡萄糖对 Treg 功能及下游分子的调控机制, 将有助于明确

高糖对免疫系统的影响。此外,我们还发现,在 Th17 分化的条件下,随着葡萄糖浓度的增加,Th17 细胞转录因子 RORC 表达水平下调,且细胞分化比例及相应细胞因子的表达亦降低,提示葡萄糖可抑制 Th17 的分化。一些研究者发现,在肿瘤环境中 Th17 细胞增多^[22],肿瘤细胞的糖酵解能力强,血液供应不足,导致肿瘤微环境中葡萄糖和氨基酸水平降低^[23]。我们的结果解释了肿瘤特殊的低糖环境可能促进了 Th17 细胞增多,而后者作为调节肿瘤免疫的重要细胞之一,其所分泌的 IL-17A、IL-22 等细胞因子能促进肿瘤血管的生成^[22];此外,肿瘤微环境中较多的 IL-1 β 、IL-6 或肿瘤来源的抗原提呈细胞,也可直接促进 Th17 分化^[24-25]。有报道^[26]认为,IFN- γ /STAT1 信号通路可能是肿瘤发生的必要条件。我们的结果显示,葡

萄糖可抑制 Th1 分化,提示低糖微环境可影响 T 细胞分泌 IFN- γ 。因此,深入研究葡萄糖对 Th1 和 Th17 分化的调控将有助于阐明肿瘤微环境与炎症的关系。另外,我们发现葡萄糖可促进 Th2 分化,而 Th2 和 Th1 之间存在着相互的调控平衡,葡萄糖又可抑制 Th1 的分化,提示葡萄糖可能是某些 Th1/Th2 失衡所致疾病的重要调控因素。

我们的研究发现,葡萄糖可通过影响 T 细胞亚群关键转录因子的表达,促进 Treg 和 Th2 分化、抑制 Th17 和 Th1 分化。研究结果有助于了解某些病理情况下 CD4⁺ T 细胞不同亚群间的动态变化,为研究葡萄糖浓度变化所引起的疾病,或在疾病进程中葡萄糖浓度对免疫细胞的影响提供实验依据。

参·考·文·献

- [1] Bantug G, Galluzzi L, Kroemer G, et al. The spectrum of T cell metabolism in health and disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2018, 18(1): 19-34.
- [2] Zhu J, Yamane H, Paul WE. Differentiation of effector CD4⁺ T cell populations[J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 445-489.
- [3] Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases[J]. *Autoimmun Rev*, 2014, 13(6): 668-677.
- [4] Wang R, Green DR. Metabolic checkpoints in activated T cells[J]. *Nat Immunol*, 2012, 13(10): 907-915.
- [5] Wang A, Huen SC, Luan HH, et al. Opposing effects of fasting metabolism on tissue tolerance in bacterial and viral inflammation[J]. *Cell*, 2016, 166(6): 1512-1525.
- [6] Cham CM, Gajewski TF. Glucose availability regulates IFN- γ production and p70S6 kinase activation in CD8⁺ effector T cells[J]. *J Immunol*, 2005, 174(8): 4670-4677.
- [7] Chang CH, Curtis JD, Maggi LB Jr, et al. Posttranscriptional control of T cell effector function by aerobic glycolysis[J]. *Cell*, 2013, 153(6): 1239-1251.
- [8] Stentz FB, Kitabch AE. Hyperglycemia-induced activation of human T-lymphocytes with de novo emergence of insulin receptors and generation of reactive oxygen species[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2005, 335(2): 491-495.
- [9] Maekawa Y, Ishifune C, Tsukumo S, et al. Notch controls the survival of memory CD4⁺ T cells by regulating glucose uptake[J]. *Nat Med*, 2015, 21(1): 55-61.
- [10] Choi SC, Titov AA, Abboud G, et al. Inhibition of glucose metabolism selectively targets autoreactive follicular helper T cells[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4369.
- [11] Yin Y, Choi SC, Xu Z, et al. Glucose oxidation is critical for CD4⁺ T cell activation in a mouse model of systemic lupus erythematosus[J]. *J Immunol*, 2016, 196(1): 80-90.
- [12] Palmer CS, Ostrowski M, Gouillou M, et al. Increased glucose metabolic activity is associated with CD4⁺ T-cell activation and depletion during chronic HIV infection[J]. *AIDS*, 2014, 28(3): 297-309.
- [13] Wen Z, Jin K, Shen Y, et al. N-myristoyltransferase deficiency impairs activation of kinase AMPK and promotes synovial tissue inflammation[J]. *Nat Immunol*, 2019, 20(3): 313-325.
- [14] Miya A, Nakamura A, Miyoshi H, et al. Impact of glucose loading on variations in CD4⁺ and CD8⁺ T cells in Japanese participants with or without type 2 diabetes[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2018, 9: 81.
- [15] Curiel TJ, Coukos G, Zou L, et al. Specific recruitment of regulatory T cells in ovarian carcinoma fosters immune privilege and predicts reduced survival[J]. *Nat Med*, 2004, 10(9): 942-949.
- [16] Góral A, Broła W, Kasprzyk M, et al. The role of vitamin D in the pathogenesis and course of multiple sclerosis[J]. *Wiad Lek*, 2015, 68(1): 60-66.
- [17] Hernandez AL, Kitz A, Wu C, et al. Sodium chloride inhibits the suppressive function of FOXP3⁺ regulatory T cells[J]. *J Clin Invest*, 2015, 125(11): 4212-4222.
- [18] Zhang D, Chia C, Jiao X, et al. D-mannose induces regulatory T cells and suppresses immunopathology[J]. *Nat Med*, 2017, 23(9): 1036-1045.
- [19] Muehling LM, Lawrence MG, Woodfolk JA. Pathogenic CD4⁺ T cells in patients with asthma[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017, 140(6): 1523-1540.
- [20] Zhen Y, Sun L, Liu H, et al. Alterations of peripheral CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T regulatory cells in mice with STZ-induced diabetes[J]. *Cell Mol Immunol*, 2012, 9(1): 75-85.
- [21] Lindley S, Dayan CM, Bishop A, et al. Defective suppressor function in CD4⁺CD25⁺ T-cells from patients with type 1 diabetes[J]. *Diabetes*, 2005, 54(1): 92-99.
- [22] Miyahara Y, Odunsi K, Chen W, et al. Generation and regulation of human CD4⁺ IL-17-producing T cells in ovarian cancer[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(40): 15505-15510.
- [23] Johnson MO, Siska PJ, Contreras DC, et al. Nutrients and the microenvironment to feed a T cell army[J]. *Semin Immunol*, 2016, 28(5): 505-513.
- [24] Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer[J]. *Cell*, 2010, 140(6): 883-899.
- [25] Yang B, Kang H, Fung A, et al. The role of interleukin 17 in tumour proliferation, angiogenesis, and metastasis[J]. *Mediators Inflamm*, 2014, 2014: 623759.
- [26] Hanada T, Kobayashi T, Chinen T, et al. IFN γ -dependent, spontaneous development of colorectal carcinomas in SOCS1-deficient mice[J]. *J Exp Med*, 2006, 203(6): 1391-1397.

[收稿日期] 2019-01-30

[本文编辑] 邵碧云