

· 综 述 ·

肠道菌群介导调节性 T 细胞影响骨代谢的研究进展

孟愿, 石瑛, 詹红生

(上海中医药大学附属曙光医院, 上海 201203)

摘 要 人体肠道内的微生物构成了复杂的肠道微生态系统。肠道菌群能够通过免疫系统调节、代谢产物分泌等多个途径影响骨代谢。调节性 T 细胞是 T 细胞的一个特殊亚群, 其介导的免疫抑制在骨代谢过程中起重要作用。肠道菌群能够影响调节性 T 细胞的分化与功能, 进而影响骨代谢。本文对调节性 T 细胞进行了概述, 并从肠道菌群对调节性 T 细胞的影响及调节性 T 细胞对骨形成、骨吸收的影响等方面对肠道菌群介导调节性 T 细胞影响骨代谢的研究进展进行了综述。

关键词 胃肠道微生物群; T-淋巴细胞; 骨生成; 骨质吸收; 综述

随着社会老龄化的加剧, 骨质疏松症及骨质疏松性骨折的发病率日趋增高。尽管在骨质疏松症发病机制与新药开发等方面的研究取得了巨大进步, 但临床上骨质疏松症的治疗效果并不令人满意。因此, 进一步探究骨代谢的相关机制进而为骨质疏松症提供新的疗法具有重要意义。人体肠道内含有超过一百万亿个微生物, 构成了复杂的肠道微生态系统^[1]。肠道微生物通过释放人体不能合成的营养物质、抑制外来病原体定植、调节免疫系统促进人体生长发育^[2]。研究发现, 肠道菌群与心血管疾病、炎症性肠病、风湿免疫性疾病、骨代谢异常等有关^[3]。目前, 关于肠道菌群影响骨骼系统的作用机制有 3 种假说: ①肠道菌群通过对肠道免疫系统的调节影响骨代谢; ②肠道菌群通过肠道屏障和营养吸收影响骨代谢; ③肠道菌群及其代谢产物通过调节肠脑轴影响骨代谢^[4-5]。调节性 T 细胞介导的免疫抑制在骨代谢过程中起重要作用, 已成为骨免疫学研究的热点, 并取得了一定的研究成果。本文对调节性 T 细胞进行了概述, 并从肠道菌群对调节性 T 细胞的影响及调节性 T 细胞对骨形成、骨吸收的影响等方面对肠道菌群介导调节性 T 细胞影响骨代谢的研究进展进行了综述。

1 调节性 T 细胞概述

调节性 T 细胞是 T 细胞的一个特殊亚群, 主要通过调节 T 细胞的效应功能来预防自身免疫性疾病、维持外周免疫耐受和限制慢性炎症性疾病进展^[6]。在

体内, 部分调节性 T 细胞在胸腺发育成熟(天然调节性 T 细胞), 部分调节性 T 细胞在肠道等外周组织中发育成熟(诱导调节性 T 细胞); 在体外, CD4⁺ T 细胞前体在白细胞介素(interleukin, IL)-2、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 等细胞因子诱导下可发育为调节性 T 细胞^[7]。调节性 T 细胞根据其分化抗原不同, 又可分为多种类型。Foxp3⁺ CD4⁺ 调节性 T 细胞广泛存在于人体中的各个脏器, 但在肠道固有层中, 其在 CD4⁺ T 细胞中的占比更高。在小肠固有层中, Foxp3⁺ CD4⁺ 调节性 T 细胞在 CD4⁺ T 细胞的占比大于 20%; 在结肠固有层中, 该比例大于 30%^[8]。

调节性 T 细胞的主要功能是免疫抑制。在体外, 调节性 T 细胞通过细胞间直接接触实现免疫抑制; 在体内, 调节性 T 细胞通过分泌肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、IL-10、TGF- β 等细胞因子发挥免疫抑制的作用^[9]。此外, 调节性 T 细胞会根据局部微环境, 重新分化成为具有辅助特性的 Th1 调节性 T 细胞、Th2 调节性 T 细胞、Th17 调节性 T 细胞以及 Tfh 调节性 T 细胞 4 种亚型; 这些调节性 T 细胞分别通过分泌 CXC 趋化因子受体 3、GATA 结合蛋白 3、RAR 相关孤儿素受体 γ 以及 B 细胞淋巴瘤因子 6 等转录因子参与维持其免疫抑制功能^[10]。研究发现, 调节性 T 细胞的免疫抑制作用主要通过调控细胞因子的分泌、树突状细胞的成熟、相关免疫细胞的代谢及细胞凋亡等途径来实现^[11]。

2 肠道菌群对调节性 T 细胞的影响

肠道菌群可以调节肠道组织内调节性 T 细胞的分布^[12]。Round 等^[13]研究发现, 与常规菌群定植的

基金项目: 上海市临床重点专科“中医骨伤科学”建设项目 (shslczdk03901); 上海市慢性筋骨病临床医学研究中心项目 (20MC1920600)

通讯作者: 石瑛 E-mail: shiying1974@126.com

小鼠比较, 无菌小鼠结肠固有层中调节性 T 细胞数量较少, TGF- β 、IL-10 等细胞因子表达量下降; 而在无菌小鼠肠道中定植脆弱拟杆菌后, 小鼠结肠中调节性 T 细胞数量增加 2 倍。Arpaia 等^[14]研究发现, 在采用广谱抗生素处理后, 给小鼠喂食含有鼠李糖乳杆菌或丁酸的饮用水, 小鼠骨髓和脾脏中调节性 T 细胞的绝对和相对数量均增加, 提示鼠李糖乳杆菌和丁酸可以引起调节性 T 细胞的增殖分化。小鼠的肠道菌群紊乱会导致肠道内炎症反应, 进而导致结肠的调节性 T 细胞及其相关的细胞因子在短期内明显提高^[13]。因此, 调节性 T 细胞的数量受到肠道菌群的影响, 肠道菌群参与调节性 T 细胞的调控。

调节性 T 细胞在维持肠道屏障功能、抑制肠道免疫反应、促进炎症消退和肠道黏膜恢复方面发挥着至关重要的作用^[15]。结肠是小鼠微生物含量最高的部位, 同时结肠固有层中调节性 T 细胞的比例也较高; 提示调节性 T 细胞的发育和成熟受到微生物菌群的强烈影响^[15]。新生小鼠肠道固有层中调节性 T 细胞的比例显著高于成年小鼠, 免疫抑制作用也更强; 提示调节性 T 细胞对于幼年小鼠免疫耐受的建立起重要作用^[16]。Wang 等^[17]研究发现, 采用广谱抗生素处理小鼠后, 小鼠肠道内微生物数量下降, 肠系膜淋巴结、派氏结及肠道固有层中调节性 T 细胞显著减少。Abdel-Gadir 等^[18]研究发现, 采用无菌食物饲喂小鼠后, 小鼠肠道固有层中调节性 T 细胞数量减少, 而小鼠食物过敏的发生率显著增加。Pandiyani 等^[19]研究发现, 无菌小鼠会发生肠道上皮受损的情况, 进一步研究发现, Foxp3⁺ 调节性 T 细胞对于肠道黏膜耐受的建立起重要作用; 提示缺少肠道菌群会限制肠道内调节性 T 细胞的分化, 进而影响肠道黏膜耐受的建立。肠道菌群对调节性 T 细胞的分化有重要影响, 而调节性 T 细胞对肠道内免疫耐受发挥重要作用; 但二者的调控机制复杂, 目前尚未完全清楚。

3 调节性 T 细胞对骨形成的影响

成骨细胞是人体骨骼形成的主要功能细胞, 负责人体骨骼的合成、分泌、矿化等。Runyan 等^[20-22]研究发现, CD4⁺ 调节性 T 细胞通过分泌 TGF- β 激活促分裂原活化的蛋白激酶和表达 Smad 蛋白等诱导间充质干细胞向成骨细胞分化。Tyagi 等^[23]通过 CD25Ab 抗体耗尽小鼠体内的调节性 T 细胞, 比较调节性 T 细胞缺失组和调节性 T 细胞充盈组小鼠骨代

谢相关标志物的变化, 结果显示调节性 T 细胞充盈组小鼠 I 型胶原氨基端前肽血清含量显著高于调节性 T 细胞缺失组; 提示调节性 T 细胞能够提高成骨细胞活性, 增加骨形成。Deng 等^[24]研究也发现, 调节性 T 细胞能够提高成骨细胞的活性。

Wnt 信号通路在成骨细胞分化和骨形成过程中发挥重要作用^[25]。Jiang 等^[26-27]研究发现, 调节性 T 细胞分泌 TGF- β 等细胞因子, 促使间充质干细胞表达 Smad 和 NFAT 等转录因子, 而 Smad 和 NFAT 能够与 Wnt10b 基因的多个位点结合, 促使 Wnt10b 的表达, 进而激活其 Wnt 信号通路, 促使间充质干细胞分化为成骨细胞。Yu 等^[28]研究发现, 调节性 T 细胞参与 CD8⁺ T 细胞表达 Wnt10b 的过程, 而 Wnt10b 通过激活成骨细胞及基质细胞中的 Wnt 信号通路, 促进骨形成。Li 等^[29]研究发现, 采用甲状旁腺激素治疗骨质疏松小鼠, 小鼠体内调节性 T 细胞能够刺激骨髓组织中的 CD8⁺ T 细胞表达 Wnt10b, 进而激活 Wnt 信号通路, 促进骨形成。

因此, 调节性 T 细胞能够促进成骨细胞分化及骨形成, 其作用机制与激活 Wnt 信号通路关系密切。

4 调节性 T 细胞对骨吸收的影响

调节性 T 细胞影响骨吸收的作用机制包括细胞接触抑制和分泌细胞因子抑制^[22], 其中天然调节性 T 细胞主要通过细胞接触抑制破骨细胞生成, 诱导调节性 T 细胞通过分泌相关细胞因子抑制破骨细胞生成^[30]。Fischer 等^[31]研究发现, 破骨细胞的生成高度依赖于细胞微环境中的粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、核因子 κ B 受体活化因子配体 (receptor activator of nuclear factor- κ B ligand, RANKL) 等信号分子。Rossi 等^[32]研究发现, 调节性 T 细胞能够通过降低破骨细胞微环境中 GM-CSF、RANKL 的水平, 抑制破骨细胞生成。Taylor 等^[33-34]研究发现, 调节性 T 细胞通过分泌 IL-10 促进机体分泌骨保护素, 进而抑制 RANKL 和 GM-CSF 的表达, 延缓破骨细胞的分化成熟。细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4) 是调节性 T 细胞通过细胞接触抑制破骨细胞生成的重要表面分子^[35]。CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞可通过表达 CTLA-4 抑制 GM-CSF 和 RANKL 的表达, 进而抑制破骨细胞生成^[31]。此外, Foxp3⁺ CD8⁺ 调节性 T 细

胞可以通过分泌 γ - 干扰素抑制破骨细胞肌动蛋白环的形成来抑制破骨细胞的成熟和活性^[36]。Zeng 等^[37-38]研究发现,切除卵巢的小鼠体内雌激素水平下降,同时调节性 T 细胞水平随之下降,进而导致调节性 T 细胞分泌相关细胞因子的数量减少,调节性 T 细胞对破骨细胞的抑制作用减弱;给予小鼠低浓度的雌激素,则能够促进机体分泌 TGF- β 1 和 IL-10 等细胞因子,进而增强调节性 T 细胞抑制破骨细胞的能力。因此,调节性 T 细胞能够通过表达 CTLA-4 以及分泌 IL-10、 γ - 干扰素和 TGF- β 1 等方式发挥抑制骨形成的作用。

5 小 结

调节性 T 细胞的主要功能是免疫抑制。肠道菌群能够调节肠道组织内调节性 T 细胞的分化功能,而调节性 T 细胞对肠道内免疫耐受发挥重要作用。调节性 T 细胞能够促进成骨细胞分化及骨形成,其作用机制与激活 Wnt 信号通路关系密切,同时其还能够通过表达 CTLA-4 以及分泌 IL-10、 γ - 干扰素和 TGF- β 1 等方式发挥抑制骨吸收的作用。目前,关于肠道菌群介导调节骨代谢的作用机制尚未完全明确,但已有研究发现通过给予小鼠口服益生菌能够增加调节性 T 细胞的数量,进而提高成骨细胞活性,增加骨形成^[39]。因此,深入研究肠道菌群、调节性 T 细胞和骨代谢的关系及其分子机制,对于骨质疏松症新疗法的研发具有重要意义。

参考文献

- [1] CARUSO R, LO B C, NUNEZ G. Host - microbiota interactions in inflammatory bowel disease[J]. Nat Rev Immunol, 2020, 20(7): 411 - 426.
- [2] MILANI C, DURANTI S, BOTTACINI F, et al. The first microbial colonizers of the human gut: composition, activities, and health implications of the infant gut microbiota[J/OL]. Microbiol Mol Biol Rev, 2017, 81(4): e00036 - 17[2022 - 05 - 06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5706746/>.
- [3] DURACK J, LYNCH S V. The gut microbiome: relationships with disease and opportunities for therapy[J]. J Exp Med, 2019, 216(1): 20 - 40.
- [4] CHARLES J F, ERMANN J, ALIPRANTIS A O. The intestinal microbiome and skeletal fitness: connecting bugs and bones[J]. Clin Immunol, 2015, 159(2): 163 - 169.
- [5] DING K, HUA F, DING W. Gut microbiome and osteoporosis[J]. Aging Dis, 2020, 11(2): 438 - 447.
- [6] SAKAGUCHI S, MIKAMI N, WING J B, et al. Regulatory T cells and human disease[J]. Annu Rev Immunol, 2020, 38: 541 - 566.
- [7] SHEVACH E M, THORNTON A M. iTregs, pTregs, and iTregs: similarities and differences[J]. Immunol Rev, 2014, 259(1): 88 - 102.
- [8] STEFKA A T, FEEHLEY T, TRIPATHI P, et al. Commensal bacteria protect against food allergen sensitization[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(36): 13145 - 13150.
- [9] TANI - ICHI S, SHIMBA A, WAGATSUMA K, et al. Interleukin - 7 receptor controls development and maturation of late stages of thymocyte subpopulations[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(2): 612 - 617.
- [10] 刘莉, 续珊, 焦沃尔, 等. 调节性 T 细胞亚群的分化机制与功能研究进展[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2021, 56(5): 522 - 527.
- [11] 程爱荣, 程焱, 孙保亮. 调节性 T 细胞及其免疫抑制机制[J]. 中国临床神经科学, 2014, 22(4): 438 - 444.
- [12] LYNCH S V, PEDERSEN O. The human intestinal microbiome in health and disease [J]. N Engl J Med, 2016, 375(24): 2369 - 2379.
- [13] ROUND J L, MAZMANIAN S K. Inducible Foxp3 + regulatory T - cell development by a commensal bacterium of the intestinal microbiota[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(27): 12204 - 12209.
- [14] ARPAIA N, CAMPBELL C, FAN X, et al. Metabolites produced by commensal bacteria promote peripheral regulatory T - cell generation [J]. Nature, 2013, 504(7480): 451 - 455.
- [15] ATARASHI K, TANOUE T, SHIMA T, et al. Induction of colonic regulatory T cells by indigenous Clostridium species[J]. Science, 2011, 331(6015): 337 - 341.
- [16] KNOOP K A, GUSTAFSSON J K, MCDONALD K G, et al. Microbial antigen encounter during a preweaning interval is critical for tolerance to gut bacteria[J/OL]. Sci Immunol, 2017, 2(18): eaao1314 [2022 - 05 - 06]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5759965/>.
- [17] WANG G, HUANG S, WANG Y, et al. Bridging intestinal immunity and gut microbiota by metabolites [J]. Cell Mol Life Sci, 2019, 76(20): 3917 - 3937.
- [18] ABDEL - GADIR A, STEPHEN - VICTOR E, GERBER G K, et al. Microbiota therapy acts via a regulatory T cell MyD88/RORgammat pathway to suppress food allergy[J]. Nat Med, 2019, 25(7): 1164 - 1174.

- [19] PANDIYAN P, BHASKARAN N, ZOU M, et al. Microbiome dependent regulation of Tregs and Th17 cells in mucosa[J]. *Front Immunol*, 2019, 10:426.
- [20] RUNYAN C E, LIU Z, SCHNAPER H W. Phosphatidylinositol 3 - kinase and Rab5 GTPase inversely regulate the Smad anchor for receptor activation (SARA) protein independently of transforming growth factor - beta1 [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(43):35815 - 35824.
- [21] ZHAO L, JIANG S, HANTASH B M. Transforming growth factor beta1 induces osteogenic differentiation of murine bone marrow stromal cells[J]. *Tissue Eng Part A*, 2010, 16(2):725 - 733.
- [22] ZHU L, HUA F, DING W, et al. The correlation between the Th17/Treg cell balance and bone health[J]. *Immun Ageing*, 2020, 17:30.
- [23] TYAGI A M, YU M, DARBY T M, et al. The microbial metabolite butyrate stimulates bone formation via t regulatory cell - mediated regulation of Wnt10b expression[J]. *Immunity*, 2018, 49(6):1116 - 1131.
- [24] DENG Z, ZHANG Q, ZHAO Z, et al. Crosstalk between immune cells and bone cells or chondrocytes[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 101(Pt A):108179.
- [25] KOBAYASHI Y, UEHARA S, UDAGAWA N, et al. Regulation of bone metabolism by Wnt signals[J]. *J Biochem*, 2016, 159(4):387 - 392.
- [26] JIANG M, LIU R, LIU L, et al. Identification of osteogenic progenitor cell - targeted peptides that augment bone formation[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1):4278.
- [27] 张钰涵, 梅其炳, 牛银波. 短链脂肪酸调控骨代谢的作用及机制的研究进展[J]. *微生物学通报*, 2021; 48(11): 4306 - 4314.
- [28] YU M, D'AMELIO P, TYAGI A M, et al. Regulatory T cells are expanded by teriparatide treatment in humans and mediate intermittent PTH - induced bone anabolism in mice[J]. *EMBO Rep*, 2018, 19(1):156 - 171.
- [29] LI J Y, YU M, PAL S, et al. Parathyroid hormone - dependent bone formation requires butyrate production by intestinal microbiota[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(4):1767 - 1781.
- [30] BOZEC A, ZAISS M M. T regulatory cells in bone remodeling[J]. *Current Osteoporosis Reports*, 2017, 15(3):121 - 125.
- [31] FISCHER L, HERKNER C, KITTE R, et al. Foxp3(+) regulatory T cells in bone and hematopoietic homeostasis[J]. *Front Endocrinol (Lausanne)*, 2019, 10:578.
- [32] ROSSI M, RANA I, BUONUOMO P S, et al. Stimulation of treg cells to inhibit osteoclastogenesis in Gorham - Stout disease[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9:706596.
- [33] TAYLOR A, VERHAGEN J, BLASER K, et al. Mechanisms of immune suppression by interleukin - 10 and transforming growth factor - beta; the role of T regulatory cells[J]. *Immunology*, 2006, 117(4):433 - 442.
- [34] DAR H Y, AZAM Z, ANUPAM R, et al. Osteoimmunology: the nexus between bone and immune system[J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2018, 23:464 - 492.
- [35] YUAN F L, LI X, LU W G, et al. Regulatory T cells as a potent target for controlling bone loss[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2010, 402(2):173 - 176.
- [36] SHASHKOVA E V, TRIVEDI J, CLINE - SMITH A B, et al. Osteoclast - primed Foxp3 + CD8 T cells induce T - bet, eomesodermin, and IFN - gamma to regulate bone resorption[J]. *J Immunol*, 2016, 197(3):726 - 735.
- [37] ZENG Q M, LIU D C, ZHANG X C, et al. Estrogen deficiency inducing shifted cytokines profile in bone marrow stromal cells inhibits Treg cells function in OVX mice[J]. *Cell Mol Biol (Noisy - le - grand)*, 2015, 61(2):64 - 68.
- [38] SCHEPPER J D, COLLINS F L, RIOS - ARCE N D, et al. Probiotic lactobacillus reuteri prevents postantibiotic bone loss by reducing intestinal dysbiosis and preventing barrier disruption[J]. *J Bone Miner Res*, 2019, 34(4):681 - 698.
- [39] TU M Y, HAN K Y, CHANG G R, et al. Kefir peptides prevent estrogen deficiency-induced bone loss and modulate the structure of the gut microbiota in ovariectomized mice[J]. *Nutrients*, 2020, 12(11):3432.

(收稿日期:2022-06-24 本文编辑:吕宁)