

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.09.031

抑郁状态对患者调节性 T 细胞和调节性 B 细胞的作用研究

姚 雷¹ 孟令宇² 常海钰² 王丹阳² 李 磊¹ 梁玉梅^{2Δ}

(1 96542 部队 河南 洛阳 471000; 2 解放军第 309 医院 北京 100091)

摘要 目的:探讨抑郁状态对患者调节性 T 细胞(Treg 细胞)和调节性 B 细胞(Breg 细胞)的作用。**方法:**收集入住我院 40 名抑郁患者,同时将来我院进行体检的 40 名健康志愿者作为对照组。分离各组的淋巴细胞,CD4、CD25 和 Foxp3 标记 Treg 细胞,CD3、CD19 和 TGF- β 标记 Breg 细胞,之后流式检测各组细胞的比例。**结果:**流式结果显示 CD4⁺ 的辅助 T 细胞比例在抑郁组和对照组之间没有显著的差别($P>0.05$);抑郁组中 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ 的 Treg 细胞的比例显著的高于对照组,升高了 52.3%,结果具有统计学差异($P<0.05$);CD3-CD19⁺ 的 B 细胞比例在抑郁组和对照组之间没有显著的差别($P>0.05$);相对于对照组,抑郁组 CD3-CD19⁺TGF- β ⁺ 的 Breg 细胞比例显著升高,增加了 91.7%,结果具有统计学差异($P<0.05$)。**结论:**抑郁患者体内 Treg 细胞和 Breg 细胞显著升高,引起机体免疫低下,我们的研究为了解神经和免疫的相关性提供了一定的理论参考。

关键词:抑郁;Treg 细胞;Breg 细胞;免疫

中图分类号:R749.7 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2017)09-1716-03

Effects of Depression on Regulatory T Cells and Regulatory B Cells

YAO Lei¹, MENG Ling-yu², CHANG Hai-yu², WANG Dan-yang², LI Lei¹, LIANG Yu-mei^{2Δ}

(1 96542 force, Luoyang, Henan, 471000, China; 2 309th hospital of PLA, Beijing, 100091, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of depression on the regulatory T cells (Treg cells) and regulatory B cells (Breg cells). **Methods:** We collected 40 patients with depression in our hospital, and 40 healthy volunteers were served as control group. Lymphocytes were separated, CD4, CD25 and Foxp3 antibodies were used to label Treg cells; CD3, CD19, and TGF- β antibodies were used to label Breg cells, then flow cytometry was used to detect cell proportion in each group. **Results:** Flow cytometry results showed CD4⁺ T cells had no significant difference between depression and the control group ($P>0.05$), and The proportion of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg cells in the depression group was significantly higher than that in the control group, which increased 52.3% and the results were statistically significant ($P<0.05$); CD3-CD19⁺ Breg cells had no significant difference between depression and the control group ($P>0.05$); Compared with the control group, the proportion of CD3-CD19⁺TGF- β ⁺ Breg cells in depression group was significantly higher than that in the control group, which increased by 91.7%, and the results were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion:** Treg cells and Breg cells were significantly increased in depression patients, causing low immunity, our study provides a theoretical reference for understanding the correlation between nerve and immune.

Key words: Depression; Treg cell; Breg cell; Immunity

Chinese Library Classification(CLC): R749.7 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)09-1716-03

前言

抑郁是临床最常见的精神疾病之一,近几年生活节奏加快,工作和家庭压力增大,使得我国抑郁患者的人群数量显著增加^[1]。目前有大量的研究证据表明神经系统与免疫系统紧密相关,抑郁发作会引起 T/B 淋巴细胞失衡、NK 细胞功能下降,导致患者免疫功能低下,易患感染和肿瘤等疾病^[2-4]。调节性免疫细胞可以分为调节性 T 细胞(Treg 细胞)和调节性 B 细胞(Breg 细胞),在免疫调节中起着负性调节作用,能够诱导免疫耐受^[5,6]。然而目前国内外很少见抑郁与调节性免疫细胞相关

性的报道。

1 资料与方法

1.1 研究对象

入组患者为 2015 年 6 月-2016 年 6 月在 309 医院住院的抑郁患者,共 40 名。病例纳入标准:年龄范围在 18-50 岁;排除合并慢阻肺、心脏病、糖尿病、肾病、消化道溃疡等慢性疾病患者;排除长期吸烟、酗酒志愿者;排除因各种原因,长期服药的志愿者;小学以上学历。对照组为 40 名来院体检的健康志愿者。

1.2 试剂

人淋巴细胞分离液购于天津 TBD 生物科技公司;破膜液、CD4、CD25、Foxp3、CD3、CD19 和 TGF- β 的流式抗体购于美国 BD 公司;PBS 购于中杉金桥生物科技公司。

1.3 外周血淋巴细胞分离

收集患者的外周血,1:1 的比例加入生理盐水。充分混匀

作者简介:姚雷(1988-),本科,主要从事抑郁及其发病机制研究,
E-mail:516208308@qq.com

Δ 通讯作者:梁玉梅,病理科主任,副主任医师,主要从事免疫与神经的相关研究, E-mail:liangyumei309@126.com

(收稿日期:2016-09-23 接受日期:2016-10-19)

后缓缓加入到等体积的人淋巴细胞分离液中,2000 r/min 离心 20 min。用吸管轻轻吸出中间的淋巴细胞层,置于离心管中。PBS 清洗三次后,进行后续的流式染色。

1.4 Treg 细胞的流式检测

使用 200 μ L 的 PBS 重悬细胞后,加入 CD4 和 CD25 的流式抗体,室温孵育 15 min 后,PBS 清洗三次。之后加入预冷的破膜液,4 $^{\circ}$ C 下破膜 3 h。PBS 清洗后,加入 Foxp3 流式抗体,室温孵育 15 min,PBS 清洗三次流式检测。

1.5 Breg 细胞的流式检测

将 CD3 和 CD19 流式抗体加入充分重悬的淋巴细胞中,室温孵育 15 min,之后 PBS 清洗三次。加入预冷的破膜液,4 $^{\circ}$ C 下破膜 3 h,PBS 洗三次。加入 TGF- β 抗体,染色 15 min,PBS 清洗三次后流式检测。

1.6 统计学分析

实验结果以平均数 $\pm$ 标准误表示。使用 SPSS17.0 软件统计分析,采用 t 检验进行组之间的比较, $P<0.05$ 被认为结果有

统计学差异。

2 结果

2.1 患者的临床基本资料

对照组共有 40 例健康志愿者,其中男性有 23 例,女性有 17 例;年龄在 21 岁至 45 岁之间,平均为(35.2 $\pm$ 3.1 岁);抑郁组包括 40 名抑郁患者,其中男性有 25 例,女性有 15 例;年龄在 19 岁至 48 岁之间,平均为(34.6 $\pm$ 4.5 岁)。通过对比性别、年龄、患病时间等基本资料,进行统计学方法分析,两者之间没有统计学差异($P>0.05$),则具有可比性。

2.2 抑郁患者 Treg 细胞的比例显著增高

流式检测的结果发现,CD4 $^{+}$ 的 T 细胞比例在抑郁组和对照组之间没有显著的差别,结果不具有统计学差异($P>0.05$);抑郁组中 CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ Foxp3 $^{+}$ 的 Treg 细胞的比例显著的高于对照组,升高了 52.3%,结果具有统计学差异($P<0.05$)。(图1)。

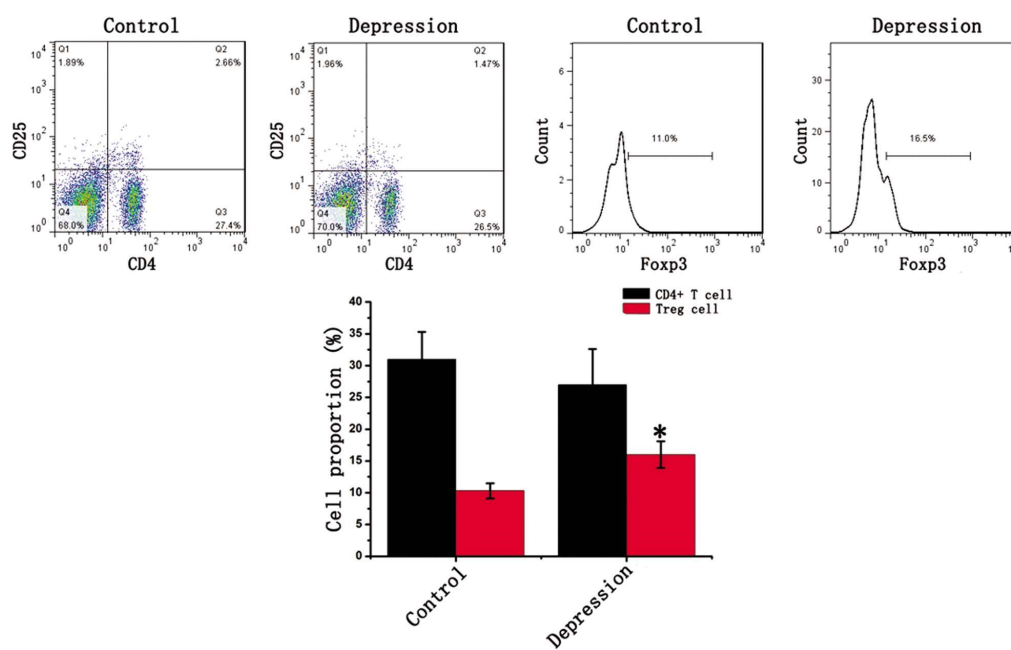


图1 抑郁患者 Treg 细胞的比例显著增高

Fig.1 The proportion of Treg cells was significantly increased in patients with depression. (* $P<0.05$, Depression vs Control)

2.3 抑郁患者 Breg 细胞的比例显著增高

我们采用 CD3、CD19 和 TGF- β 标记淋巴细胞中 Breg 细胞比例,结果显示 CD3-CD19 $^{+}$ 的 B 细胞比例在抑郁组和对照组之间没有显著的差别,结果不具有统计学差异($P>0.05$);相对于对照组,抑郁组 CD3-CD19 $^{+}$ TGF- β $^{+}$ 的 Breg 细胞比例显著升高,增加了 91.7%,结果具有统计学差异($P<0.05$)。(图 2)。

3 讨论

抑郁症是指以显著且持久的心境低落为主要特征的心境障碍。抑郁不仅仅是神经递质的改变,还显著影响着患者的免疫功能。研究表明抑郁患者伴随着 HPA 轴、5-羟色胺和去甲肾上腺素等神经递质的改变。HPA 轴的活跃会反馈性的引起免疫细胞分子如 IL-1、IL-4、IL-6 和 TNF- α 等的下调,降低机体对外界病原体的抵御和内环境稳态的监控^[7,8]。此外,临床研究的

结果显示血清中免疫分子随着抑郁病情的改变而发生着变化,可以作为监控抑郁程度和药物治疗效果的有效指标。我们的研究发现抑郁患者体内调节性免疫细胞显著升高,抑制患者的体液免疫和细胞免疫,最终引起患者抵抗力下降,易患感染或者肿瘤等疾病^[9,10]。

细胞免疫是指机体受到抗原刺激后,致敏 T 细胞(效应 T 细胞)对抗原的直接杀伤及致敏 T 细胞所释放的细胞因子的协同杀伤^[11]。Treg 细胞是一类控制体内自身免疫反应性的 T 细胞亚群,CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ 的 Treg 细胞敲除会引起小鼠自身免疫反应的发生^[12,13]。然而 Treg 细胞的局部富集,能通过免疫无能和免疫耐受两个功能引起肿瘤的发生和免疫逃逸^[14]。我们实验发现抑郁患者体内 CD4 $^{+}$ CD25 $^{+}$ Foxp3 $^{+}$ 的 Treg 细胞显著升高,进而可能引起患者免疫力低下。抑郁直接影响肿瘤的发生、发展和治疗的预后,我们研究认为其可能与抑郁患者 Treg 细胞升

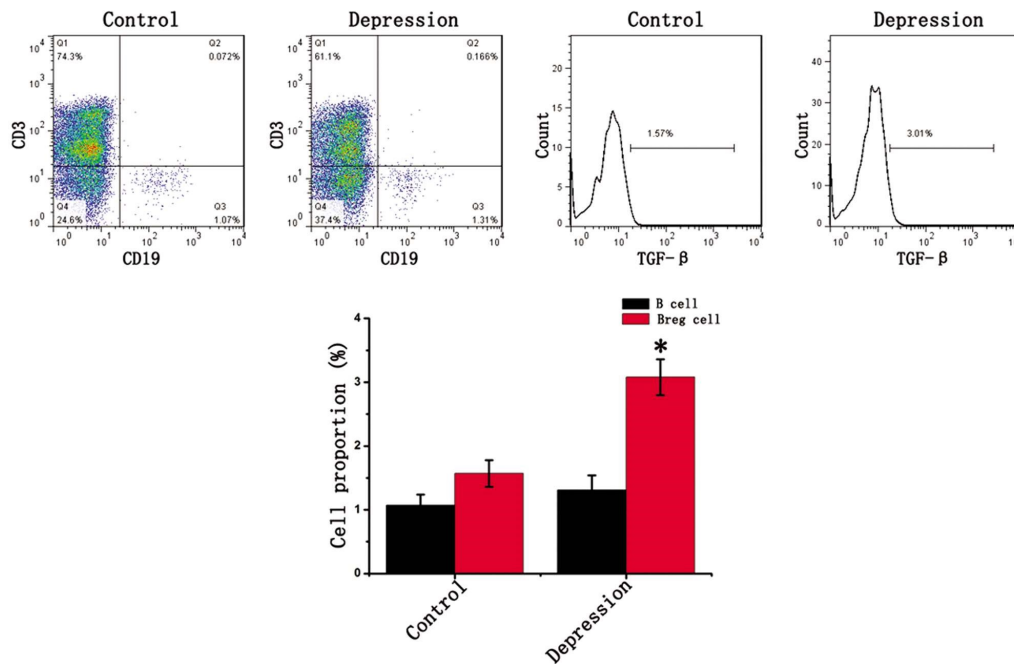


图2 抑郁患者 Breg 细胞的比例显著增高

Fig.2 The proportion of Breg cells was significantly increased in patients with depression. (* $P < 0.05$, Depression vs Control)

高具有一定的相关性。

体液免疫是指机体接受抗原刺激后形成效应 B 细胞和记忆细胞,进而产生具有专一性的抗体,与相应抗原特异性结合后完成的免疫反应^[15]。Breg 细胞能够负性调节体液免疫,一方面能够通过分泌 TGF- β 等抑制性分子抑制 B 细胞的增殖,另一方面能够通过直接接触抑制 B 细胞分化为浆细胞^[16,17]。体液免疫功能的低下会引起患者免疫缺陷,容易受细菌等微生物的侵袭和感染等。在抑郁状态下,患者体内 Breg 细胞显著升高,抑制体液免疫,使得抑郁患者容易发生感染性疾病。

综上,抑郁患者体内 Treg 细胞和 Breg 细胞比例显著升高,进而可能引起机体免疫低下,我们的研究为了解神经和免疫的相关性提供了理论参考。

参考文献(References)

- [1] Parker G, Gladstone G, Chee K T. Depression in the Planet's Largest Ethnic Group: The Chinese[J]. American Journal of Psychiatry, 2014, 158(6): 857-864
- [2] Bakunina N, Pariante C M, Zunsain P A. Immune mechanisms linked to depression via oxidative stress and neuroprogression[J]. Immunology, 2015, 144(3): 365-373
- [3] Zeng Z K, Li Q Y, Piao X S, et al. Forsythia suspensa extract attenuates corticosterone-induced growth inhibition, oxidative injury, and immune depression in broilers [J]. Poultry Science, 2014, 93 (7): 1774-1781
- [4] Benedetti M, Antonucci D, Pascali S A D, et al. Crosstalk between endocannabinoid and immune systems: a potential dysregulation in depression?[J]. Psychopharmacology, 2016, 233(9): 1-14
- [5] Pierini A, Schneidawind D, Nishikii H, et al. Regulatory T Cell Immunotherapy in Immune-Mediated Diseases. [J]. Current Stem Cell Reports, 2015, 1(4): 1-10
- [6] Correale J, Farez M F, Mc Y. Role of prolactin in B cell regulation in multiple sclerosis [J]. Journal of Neuroimmunology, 2014, 269(1-2): 76-86
- [7] Chan M K, Cooper J D, Bot M, et al. Identification of an Immune-Neuroendocrine Biomarker Panel for Detection of Depression: A Joint Effects Statistical Approach [J]. Neuroendocrinology, 2015, 63(2): 225-236
- [8] Dantzer R, O'Connor J C, Freund G G, et al. From inflammation to sickness and depression: when the immune system subjugates the brain[J]. Nature Reviews Neuroscience, 2008, 9(1): 46-56
- [9] Spiegel D, Giese-Davis J. Depression and cancer: mechanisms and disease progression[J]. Biological Psychiatry, 2003, 54(54): 269-282
- [10] Pinquart M, Duberstein P R. Depression and cancer mortality: a meta-analysis[J]. Psychological Medicine, 2010, 40(11): 1797-1810
- [11] Durrant L G, Pudney V A, Spendlove I. Using monoclonal antibodies to stimulate antitumor cellular immunity [J]. Expert Review of Vaccines, 2014, 10(7): 1093-1106
- [12] De Wolf C, Ruurd V D Z, Den Braber I, et al. An Arthritis-Suppressive and Treg Cell-Inducing CD4+ T Cell Epitope Is Functional in the Context of HLA-Restricted T Cell Responses[J]. Arthritis & Rheumatology, 2016, 68(3): 639-647
- [13] Oldenhove G, Bouladoux N, Wohlfert E A, et al. Decrease of Foxp3 +, Treg Cell Number and Acquisition of Effector Cell Phenotype during Lethal Infection[J]. Immunity, 2009, 31(5): 772-786
- [14] Yuan X L, Chen L M. Elevated expression of Foxp3 in tumor-infiltrating Treg cells suppresses T-cell proliferation and contributes to gastric cancer progression in a COX-2-dependent manner[J]. Clinical Immunology, 2010, 134(3): 277-288
- [15] Tsiantoulas D, Diehl C J, Witztum J L, et al. B cells and humoral immunity in atherosclerosis. [J]. Circulation Research, 2014, 114(11): 1743-1756
- [16] Knippenberg S, Peelen E, Smolders J, et al. Reduction in IL-10 producing B cells (Breg) in multiple sclerosis is accompanied by a reduced naive/memory Breg ratio during a relapse but not in remission [J]. Journal of Neuroimmunology, 2011, 239(1-2): 80-86
- [17] Mavropoulos A, Simopoulou T, Varna A, et al. Breg Cells Are Numerically Decreased and Functionally Impaired in Patients With Systemic Sclerosis[J]. Arthritis & Rheumatology, 2016, 68(2): 494-504