



哺乳动物胸腺器官发育及调控

李兰兰 张连军 赵 勇

(中国科学院动物研究所,生物膜与膜生物工程国家重点实验室移植生物学研究组,北京 100101)

摘要:胸腺为 T 细胞的发育、分化成熟及功能的获得提供重要而复杂的微环境。在胸腺微环境的作用下, T 细胞发育成具有自身免疫耐受及 MHC 限制性的成熟淋巴细胞。T 细胞分化成熟过程需要胸腺细胞与起源于胚胎第 3 咽囊的胸腺上皮细胞(Thymic epithelial cells, TECs)的相互作用。对胸腺器官三维组织结构的建立、胸腺前体细胞的迁入及胸腺的发育等过程的认识,有助于我们对胸腺器官形成的理解,也为胸腺发育缺陷相关疾病的预防及治疗提供重要依据。

关键词:胸腺;胸腺上皮细胞;胸腺细胞;发育

中图分类号: R73-35 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-6179(2010)03-0050-05

1 胸腺简介

胸腺(thymus)是哺乳动物 T 细胞发育成熟的关键中枢免疫器官。此外,其分泌多种胸腺激素及激素类物质,具内分泌功能。其与机体免疫力(功能低下或自身免疫疾病等)、肿瘤发生及衰老等密切相关。

胸腺位于胸腔前纵隔,在胸骨后面并紧靠心脏,分左、右两叶,表面有薄层结缔组织被膜(capsule)。被膜结缔组织成片状伸入胸腺实质形成小叶间隔(interlobular septum),将胸腺分成许多不完整的小叶。小叶周边为皮质;深部为髓质,相邻小叶髓质彼此相连。皮质主要由密集的淋巴细胞(又称为胸腺细胞)和胸腺皮质上皮细胞(cortical thymic epithelial cells, cTECs)构成。髓质中淋巴细胞少而稀疏,胸腺髓质上皮细胞(medullary thymic epithelial cells, mTECs)多而显著。胸腺基质细胞包括 cTECs, mTECs, 巨噬细胞, 树突状细胞及成纤维细胞等。这些细胞成分及相关分子物质构成 T 细胞发育必需的胸腺微环境^[1,2]。TECs 具有多种不同表型,表现为明显的异质性。在皮质浅层胸腺细胞较大,为较原始的淋巴细胞。从浅层到深层为造血干细胞增殖分化为淋巴细胞的过程。TECs 与非上皮基质细胞

交互排列形成胸腺内高度有序的三维网络结构,为胸腺细胞发育分化提供关键微环境。在人和大动物如猪等,胸腺髓质尚有散在的圆形的胸腺小体,作用不详。

胸腺的血液供应主要由几条小动脉从胸腺四周穿越被膜进入小叶间隔,在胸腺皮质与髓质交界处形成微动脉,并发出许多毛细血管分布于皮质。这些毛细血管又汇入皮髓质交界处的毛细血管后微静脉,其中部分微静脉是高内皮的,为胸腺内淋巴细胞进出血流的主要通道。髓质的毛细血管常为有孔型,汇入微静脉后经小叶间隔及被膜出胸腺。据报道,大鼠胸腺静脉血中的淋巴细胞数量约为动脉血的 1.5 倍。实验表明,由于血-胸腺屏障(blood-thymus barrier)的屏障作用,血液的大分子物质不易进入胸腺皮质,从而避免胸腺细胞对外来抗原免疫耐受的诱导。血-胸腺屏障主要由以下成分构成:内皮细胞间有完整紧密连接的连续性毛细血管、内皮基膜、含有巨噬细胞的血管周隙及一层连续的上皮细胞基膜。胸腺内有丰富的神经末梢结构,主要终止于胸腺细胞之间或 TECs 及巨噬细胞附近。胸腺细胞表面有多种神经递质的受体,表明神经对胸腺细胞的发育分化有重要调节作用。

胸腺是培育和选择 T 细胞的重要免疫器官。胸腺中成熟的各种处女型 T 细胞,经血流输送至周

收稿日期:2009-12-10

作者简介:李兰兰(1983-)女,在读研究生。研究方向:移植免疫学。Email: lilanland316@163.com

通讯作者:赵勇,男,研究员,博士生导师。E-mail: zhaoy@ioz.ac.cn

围淋巴器官和淋巴组织,发挥免疫功能。除与胸腺细胞直接细胞相互作用以外,TECs 还可通过分泌的胸腺素(thymosin)和胸腺生成素(thymopoietin)等多种细胞因子参与胸腺细胞分化及免疫细胞功能的调节。此外,TECs 的发育也部分依赖于胸腺细胞的存在。

在人胚胎后期及初生时,胸腺约重 10~15 g,是一生中与体重比值最大的时期。随年龄增长,胸腺继续发育,到青春期约 30~40 g。青春期后逐渐退化,为脂肪组织所代替,至老年胸腺可能仅剩 15 g 左右。生长激素和甲状腺素能刺激胸腺生长,而性激素则促使胸腺退化。经典的理论认为胸腺主要在生物发育早期行使功能,最新的发现却认为胸腺在成年后仍具有活性^[3]。本文主要对胸腺器官,特别是 TECs 形成与发育的研究进展进行简要综述。

2 早期胚胎胸腺的发育

胸腺器官发生是一个复杂、高度动态的发育过

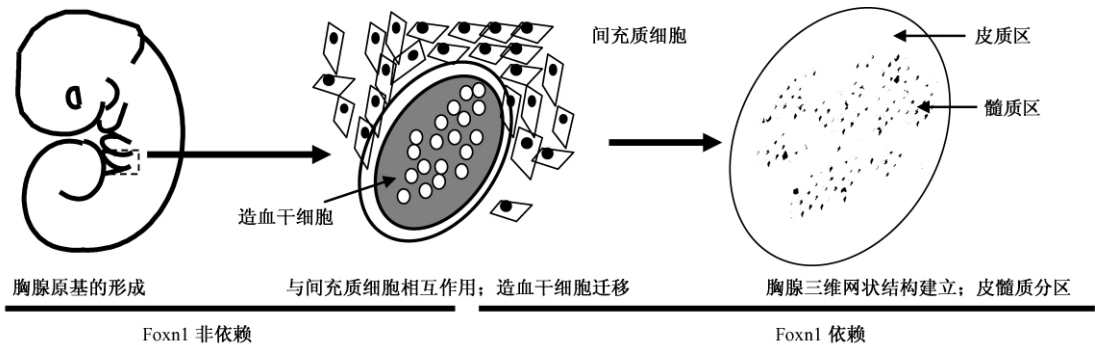


图1 胸腺器官发生简图

对于 TECs 的起源存在“双起源”和“单起源”两种模型。“双起源”模型认为 cTECs 来源于第 3 咽囊外胚层, mTECs 来源于咽囊内胚层^[12]。现在,各种证据支持“单起源”模型,认为 cTECs 和 mTECs 同一起源,来源于内胚层的单一组织可分化为所有的 TECs^[13]。关于 TECs 起源研究可以通过 3 种方法:组织学分析、谱系示踪、异位移植。通过鸡-鹌鹑嵌合体移植实验证明,咽囊内胚层单独可以产生 cTECs 和 mTECs,支持“单起源”模型^[12,14]。

新近研究表明, cTECs 和 mTECs 来源于同一胸腺上皮前体(干)细胞(Thymic epithelial progenitor cells, TEPCs)^[14,15]。在胚胎早期胸腺上皮前体(干)细胞形态均一,并共同表达胸腺发生的重要转录因子或分子,如 Hoxa3、Pax1、Pax9 和 Foxn1^[16]。在

程与级联事件^[4]。为了便于理解和陈述,小鼠胚胎胸腺形成可以人为的分为 3 个发育阶段:早期器官形成(E9.5-E11 天),晚期器官形成(E11.5-E15 天)和晚期胸腺发育(E15.5 天-出生)^[5]。一般认为,在 E9.5 天,胸腺的发育起始于内胚层来源的第三咽囊区域上皮细胞与神经嵴(Neural crest cells, NCCs)来源的间充质细胞的相互作用(图 1);在 E10.5 天,开始出现形态学上可辨认的胸腺原基(thymic anlage)^[6,7]。随后(E11.5),造血干细胞(淋巴前体细胞)进入胸腺原基(主要在间充质细胞层),但是,此时的 TECs 不具有完全支持胸腺细胞发育分化的功能^[2,8,9]。在 E12 天,正常小鼠造血前体细胞在胸腺上皮细胞集群中聚集并发生增殖,但 Foxn1 (Whn) 缺失小鼠并未发生此现象^[8,10],提示 Foxn1 在 TECs 对造血前体细胞的移行作用中具有重要调控影响。实验研究发现,在第三咽囊区域间充质细胞表达的 MafB 分子对淋巴细胞在胚胎胸腺中的聚居具有十分重要作用^[11]。

发育后期这些标记分子分离并分别在不同的胸腺上皮细胞亚群表达。其中 cTECs 表达 4F1、MTS44 和角蛋白 8 (Keratin8, K8), mTECs 表达 IVC4、MTS10 和 K5。在 E10.5 天,第 3 咽囊上皮细胞表达 4F1 和 IVC4,随后形成 4F1⁺IVC4⁻和 4F1⁻IVC4⁺不同细胞亚群^[1]。Gill 等用在 E15.5 天胸腺中分离的 CD45⁻MHC II⁺MTS24⁺(K5⁺K8⁺)细胞可发育成为胸腺^[17]。Bennett 等首先分析了 MTS20、MTS24、4F1、K5、K8 在胸腺不同胚胎发育时期的表达,并从胎鼠胸腺原基分离出 MTS20⁺MTS24⁺细胞亚群,其裸鼠肾被膜下移植后可形成所有表型的 TECs 及支持 T 细胞分化成熟,而 MTS20⁻MTS24⁻细胞亚群则无此作用,说明 MTS20⁺MTS24⁺细胞亚群具有诱导分化为 TECs 的潜能,可能为 TEPCs^[18]。此发现为研究

TECs 发育及如何构建复杂的胸腺迈出了重要一步。2008 年,实验证实, Plet-1 分子分布与 MTS20⁺ MTS24⁺ 染色相一致,其可能为小鼠早期 TEPCs 的特异分子标志^[19]。

3 TECs 与间充质细胞的相互作用

实验表明,间充质细胞对 TECs 的发育分化具有重要作用^[6,20,21]。在 E12.5 天,如果在缺少间充质细胞情况下培养胸腺,TECs 的发育会受到影响,说明 NCCs 在胸腺器官发生中具有重要作用^[22]。人工诱导裂解鸡胚,消除 NCCs 的迁移能力,可导致胸腺发育不全^[23]。尽管 NCCs 在胸腺形成的早期阶段可能具有重要作用。通过取 E12.5 天小鼠胚胎胸腺原基,与非胸腺来源的间充质细胞(肾、肺)混合培养,尽管没有咽囊 NCCs 那样有效,但也可以支持胸腺的器官发生^[20,22],表明胸腺 NCCs 支持胸腺器官形成并不是特异的,非胸腺间充质细胞也可以支持胸腺的发育。

间充质细胞影响胸腺器官发育的机制至少有一部分是通过分泌可溶性生长因子发挥作用。Auerbach 及其同事证实,间充质细胞对 TECs 的影响可以不通过细胞-细胞相互作用^[1]。另外,胸腺周围的间充质细胞表达纤维细胞生长因子 7 (Fibroblast growth factor 7, Fgf7) 和 Fgf10,TECs 表达其受体,即 Fgfr2 III b。Fgfr2 III b^{-/-} 小鼠 TECs 生长发育在 E12.5 天停止,表明这些因子在胸腺的发育过程中具有重要作用^[24]。应用基因剔除小鼠等实验模型,证实 Fgf8 及 Fgfr2 III b 对小鼠胚胎胸腺发育中发挥关键作用^[25]。在体外,在 E12.5 天没有间充质细胞支持的情况下,胰岛素样生长因子 (Insulin-like growth factor 1, IGF-1) 和上皮生长因子 (Epidermal growth factor, EGF) 可以支持胸腺的发育和分化^[26]。

4 TECs 与胸腺细胞的相互作用

目前已知,在胚胎发育的早期,TECs 的分化不需要胸腺细胞与 TECs 的相互作用。但胸腺细胞与 TECs 的相互作用对于胸腺皮质、髓质的最终成熟发育非常重要。在小鼠中,如果阻断胸腺细胞早期发育,胸腺皮质的发育大部分正常,髓质发育不全。出生后,如果缺少胸腺细胞,胸腺中 TECs 数量会减

少,未成熟 TECs 主要表现为 TEPCs 表型,即 K5⁺ K8⁺ 上皮细胞^[27],说明皮质、髓质上皮细胞的成熟需要胸腺细胞与 TECs 的相互作用。TECs 和胸腺细胞的相互作用需要可溶性细胞因子和细胞间黏附分子的相互作用。TECs 和胸腺细胞表达大量细胞黏附分子、细胞因子及其受体,如 CD2、CD58、CD54、CD11a、IL-1、IL-4、IL-6、IL-7 和 TNF- α ^[28]。淋巴毒素 (Lymphotoxin β , LT β) 和其受体 (LT β R) 对保持胸腺正常的三维结构具有重要作用。mTECs 表达 LT β R,而髓质胸腺细胞则表达 LT β 。小鼠缺失 LT β R, mTECs 数量会减少,缺乏具有正常三维结构的髓质区,髓质结构混乱,完全缺失成熟 UEA-1⁺ 细胞^[29]。LT β R 和 LT β 双缺陷的小鼠 mTECs 表达 Aire (Autoimmune Regulator) 下降,而 Aire 主要通过转录胸腺中广泛的组织特异性抗原 (Tissue-specific antigens, TSAs),在建立自身耐受中发挥重要作用^[30],故 LT β R 和 LT β 双缺陷的小鼠可发生自身免疫疾病。表明这条通路对 mTECs 的正常发育成熟具有重要作用。IFN- α 、IFN- β 或 IFN- γ 可以直接诱导 TECs 的分化和凋亡^[31]。小鼠实验表明,CD4^CD8⁻ 胸腺细胞对 cTECs 的最终成熟发挥重要作用^[32]。

5 小结

胸腺对 T 细胞的发育具有至关重要的作用,在免疫耐受的建立及维持机体内环境的稳态中也发挥重要作用。cTECs 与 mTECs 起源于同一个 TEPCs。TECs 与间充质细胞、胸腺细胞相互作用,并影响自身的发育成熟。目前对 TECs 发育分化的细胞分子、生化及表观遗传学调控机理的认识仍很浮浅,有待深入研究。对胸腺发育机制的深入理解,将有助于我们对由胸腺功能障碍所造成的免疫性疾病的认识。

参考文献

- [1] Rodewald H R. Thymus organogenesis[J]. Annu Rev Immunol, 2008, 26: 355 ~ 388.
- [2] Anderson G, Jenkinson E J. Lymphostromal interactions in thymic development and function[J]. Nat Rev Immunol, 2001, 1 (1): 31 ~ 40.
- [3] Rodewald H R The thymus in the age of retirement[J]. Nature, 1998, 396 (6712): 630 ~ 631.

- [4] Munoz J J , Garcia-Ceca J , Alfaro D , *et al.* Organizing the thymus gland [J]. *Ann N Y Acad Sci* , 2009 , **1153** : 14 ~ 19.
- [5] Manley N R. Thymus organogenesis and molecular mechanisms of thymic epithelial cell differentiation [J]. *Semin Immunol* , 2000 , **12** (5) : 421 ~ 428.
- [6] Gill J , Malin M , Sutherland J , *et al.* Thymic generation and regeneration [J]. *Immunol Rev* , 2003 , **195** : 28 ~ 50.
- [7] Manley N R , Blackburn C C. A developmental look at thymus organogenesis: where do the non-hematopoietic cells in the thymus come from? [J]. *Curr Opin Immunol* , 2003 , **15** (2) : 225 ~ 232.
- [8] Itoi M , Tsukamoto N , Yoshida H , *et al.* Mesenchymal cells are required for functional development of thymic epithelial cells [J]. *Int Immunol* , 2007 , **19** (8) : 953 ~ 964.
- [9] Amagai T , Itoi M , Kondo Y. Limited development capacity of the earliest embryonic murine thymus [J]. *Eur J Immunol* , 1995 , **25** (3) : 757 ~ 762.
- [10] Dooley J , Erickson M , Roelink H , *et al.* Nude thymic rudiment lacking functional foxn1 resembles respiratory epithelium [J]. *Dev Dyn* , 2005 , **233** (4) : 1605 ~ 1612; Boehm T. Thymus development and function [J]. *Curr Opin Immunol* , 2008 , **20** (2) : 178 ~ 184.
- [11] Sultana D A , Tomita S , Hamada M , *et al.* Gene expression profile of the third pharyngeal pouch reveals role of mesenchymal MafB in embryonic thymus development [J]. *Blood* , 2009 , **113** (13) : 2976 ~ 2987.
- [12] Cordier A C , Heremans J F. Nude mouse embryo: ectodermal nature of the primordial thymic defect [J]. *Scand J Immunol* , 1975 , **4** (2) : 193 ~ 196.
- [13] Boehm T , Bleul C C. Thymus-homing precursors and the thymic microenvironment [J]. *Trends Immunol* , 2006 , **27** (10) : 477 ~ 484.
- [14] Zhang L , Sun L , Zhao Y. Thymic epithelial progenitor cells and thymus regeneration: an update [J]. *Cell Res* , 2007 , **17** (1) : 50 ~ 55.
- [15] Rodewald H R , Paul S , Haller C , *et al.* Thymus medulla consisting of epithelial islets each derived from a single progenitor [J]. *Nature* , 2001 , **414** (6865) : 763 ~ 768; Gordon J , Wilson V A , Blair N F , *et al.* Functional evidence for a single endodermal origin for the thymic epithelium [J]. *Nat Immunol* , 2004 , **5** (5) : 546 ~ 553.
- [16] Nehls M , Kyewski B , Messerle M , *et al.* Two genetically separable steps in the differentiation of thymic epithelium [J]. *Science* , 1996 , **272** (5263) : 886 ~ 889.
- [17] Gill J , Malin M , Hollander G A , *et al.* Generation of a complete thymic microenvironment by MTS24 (+) thymic epithelial cells [J]. *Nat Immunol* , 2002 , **3** (7) : 635 ~ 642.
- [18] Bennett A R , Farley A , Blair N F , *et al.* Identification and characterization of thymic epithelial progenitor cells [J]. *Immunity* , 2002 , **16** (6) : 803 ~ 814.
- [19] Depreter M G , Blair N F , Gaskell T L , *et al.* Identification of Plet-1 as a specific marker of early thymic epithelial progenitor cells [J]. *Proc Natl Acad Sci , U S A* , 2008 , **105** (3) : 961 ~ 966.
- [20] Hollander G , Gill J , Zuklys S , *et al.* Cellular and molecular events during early thymus development [J]. *Immunol Rev* , 2006 , **209** : 28 ~ 46.
- [21] Suniara R K , Jenkinson E J , Owen J J. An essential role for thymic mesenchyme in early T cell development [J]. *J Exp Med* , 2000 , **191** (6) : 1051 ~ 1056.
- [22] Auerbach R. Morphogenetic interactions in the development of the mouse thymus gland [J]. *Dev Biol* , 1960 , **2** : 271 ~ 284.
- [23] Bockman D E , Kirby M L. Dependence of thymus development on derivatives of the neural crest [J]. *Science* , 1984 , **223** (4635) : 498 ~ 500.
- [24] Revest J M , Suniara R K , Ker K , *et al.* Development of the thymus requires signaling through the fibroblast growth factor receptor R2 - IIIb [J]. *J Immunol* , 2001 , **167** (4) : 1954 ~ 3461.
- [25] Abu-Issa R , Smyth G , Smoak I , *et al.* Fgf8 is required for pharyngeal arch and cardiovascular development in the mouse [J]. *Development* , 2002 , **129** (19) : 4613 ~ 4625; Dooley J , Erickson M , Larochelle W J , *et al.* FGFR2IIIb signaling regulates thymic epithelial differentiation [J]. *Dev Dyn* , 2007 , **236** (12) : 3459 ~ 3471.
- [26] Shinohara T , Honjo T. Studies in vitro on the mechanism of the epithelial/mesenchymal interaction in the early fetal thymus [J]. *Eur J Immunol* , 1997 , **27** (2) : 522 ~ 529.
- [27] Klug D B , Carter C , Gimenez-Conti I B , *et al.* Cutting edge: thymocyte-independent and thymocyte-dependent phases of epithelial patterning in the fetal thymus [J]. *J Immunol* , 2002 , **169** (6) : 2842 ~ 2845.
- [28] Ritter M A , Boyd R L. Development in the thymus: it takes two to tango [J]. *Immunol Today* , 1993 , **14** (9) : 462 ~ 469.
- [29] Boehm T , Scheu S , Pfeffer K , *et al.* Thymic medullary epithelial cell differentiation , thymocyte emigration , and the control of autoimmunity require lympho-epithelial cross talk via LTbetaR [J]. *J Exp Med* , 2003 , **198** (5) : 757 ~ 769.
- [30] Yano M , Kuroda N , Han H , *et al.* Aire controls the differentiation program of thymic epithelial cells in the medulla for the establishment of self-tolerance [J]. *J Exp Med* , 2008 , **205** (12) : 2827 ~ 2838.
- [31] Vidalain P O , Laine D , Zaffran Y , *et al.* Interferons mediate terminal differentiation of human cortical thymic epithelial cells [J]. *J Virol* , 2002 , **76** (13) : 6415 ~ 6424.
- [32] Shakib S , Desanti G E , Jenkinson W E , *et al.* Checkpoints in the development of thymic cortical epithelial cells [J]. *J Immunol* , 2009 , **182** (1) : 130 ~ 137.

Developmental Regulation of Thymus Organogenesis

LI Lan-lan , ZHANG Lian-jun , ZHAO Yong

(*Transplantation Biology Research Division , State Key Laboratory of Biomembrane and Membrane Biotechnology , Institute of Zoology , Chinese Academy of Sciences , Beijing 100101 , China*)

Abstract: Thymus provides the complex microenvironment which is crucially required for T-cell development and establishing the immune self-tolerance of T cells. Thymic epithelial cells (TECs) , which are composed of cortical and medullary TECs and arise from the third pharyngeal pouch , play an important role for this tightly regulated process of T cell development and maturation. Studies on the formation of a 3-dimensional thymic construction , migration of thymocytes and their precursors , and molecular events involving in thymus organogenesis will contribute better understanding the process of thymus development and offer important insights for preventing/treating thymus-relevant immune disorders.

Key words: Thymus; Thymic epithelial cells; Thymocytes; Development

(上接第 49 页)

等,也都只能在微观与宏观相结合“整合实验动物学”思想的指导下,才能得到很好的解决。

参考文献

[1] 王 钊,陈振文.现代医学实验动物学概论[M].北京:中国协和医科大学出版社,2004.

[2] 王艳红,文勇立,齐莎日娜.哺乳动物生物钟模型及研究进展[J].四川省理科学杂志,2006,28(1),33~35.

[3] 余万震,左敏静,王正荣,等.不同经纬度肝癌临床特征年周期弦曲线拟合参数对比[J].中华肝脏病杂志,2003,11(6),

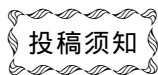
347~349.

[4] 方喜业,邢瑞昌,贺争鸣.实验动物质量控制[M].北京:中国标准出版社,2008.

[5] 魏 强,王健伟,张扬清,等.SARS 冠状病毒感染恒河猴的病毒、血清学检测研究[C].国际实验动物专题研讨会论文摘要集,2005.37.

[6] 田亚平,宋淑珍,姜 辉,等.SARS-CoV 感染康复者血清对豚鼠肺、脾脏功能的影响[J].军医进修学院学报,2005,26(1):1~3.

[7] 刘德惠.光照强度和波长与实验动物神经内分泌调节[J].中国实验动物学报,1995,3(2),117~120.



关于“计量单位”的表示

为执行国务院发布的《关于在我国统一实行法定计量单位的命令》的规定,计量单位和单位符号按国家技术监督局发布的《量和单位》GB3100-3102-93 执行。单位符号均用英文小写(正体),不允许随便对单位符号进行修饰。现将本刊常用计量单位和符号介绍如下,供作者参照。

时间:年用 a;日用 d;小时用 h;分钟用 min;秒用 s 等表示。

溶液浓度:用 mol/L,不用 M(克分子浓度)和 N(当量浓度)等非许用单位表示。

旋转速度:用 r/min,不用 rpm。

蒸汽压力:用 Pa 或 kPa、MPa 表示,而不用磅或 kg/cm²。

生物大分子的分子量:蛋白质用 D 或 kD,核酸用 bp 或 kb 表示。

带数值的计量单位:计量单位不能省略,例如:20cm×0.3cm,不能写成 20×0.3cm;3℃~5℃不可写成 3~5℃;3%~6%不可写成 3~6%等。

本刊编辑部