

• 综 述 •

三级淋巴组织在急性肾损伤慢性化转归中的研究进展*

赵思斯 综述, 廖晓辉[△] 审校

(重庆医科大学附属第二医院肾内科, 重庆 400010)

[摘要] 急性肾损伤(AKI)以肾小球滤过率快速下降为特点,是慢性肾脏病(CKD)发生和发展的重要危险因素,深入了解这一过程有助于阻止 AKI 向 CKD 进展。三级淋巴组织(TLTs)是由淋巴细胞在非淋巴器官内聚集形成,在肾脏疾病中发挥作用。该文对 TLTs 形成的分子机制、TLTs 在 AKI 向 CKD 发展的作用及治疗策略进行了综述。

[关键词] 急性肾损伤; 慢性肾脏病; 三级淋巴组织; 淋巴细胞; 慢性炎症; 综述

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.10.025

中图法分类号:R692

文章编号:1009-5519(2024)10-1738-04

文献标识码:A

Research progress of tertiary lymphoid tissues in chronic outcome of acute kidney injury*ZHAO Sisi, LIAO Xiaohui[△]

(Department of Nephrology, The Second Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

[Abstract] Acute kidney injury (AKI) is characterized by a rapid decline in glomerular filtration rate, which is an important risk factor for the occurrence and development of chronic kidney disease (CKD). A thorough understanding of this process is helpful to prevent AKI from progressing to CKD. Tertiary lymphoid tissues (TLTs) are formed by the aggregation of lymphocytes in non-lymphoid organs, which play a role in kidney diseases. This article reviewed the molecular mechanism of TLTs formation, the role of TLTs in the development of AKI to CKD, and the targeted therapeutic strategies.

[Key words] Acute kidney injury; Chronic kidney disease; Tertiary lymphoid tissues; Lymphocytes; Chronic inflammation; Review

急性肾损伤(AKI)是指由各种病因引起的短时间内肾脏排泄功能急剧减退,最终导致肾脏结构和功能改变的临床综合征^[1]。据统计,全球每年约有 1 330 万人发生 AKI,170 万人死于 AKI,其中需要肾替代治疗患者的 AKI 病死率高达 50%^[2]。随着疾病进展,30%~70%的 AKI 发展为慢性肾脏病(CKD)或终末期肾病(ESRD)^[3]。目前,AKI 向 CKD 转归(AKI-CKD)的具体机制尚不完全清楚,可能涉及内皮细胞损伤、炎症反应、肾间质纤维化、G₂/M 细胞周期阻滞、肾素血管紧张素系统激活、内皮细胞损伤、表观遗传调控等^[4]。三级淋巴组织(TLTs)是非淋巴器官在慢性炎症环境下新生的淋巴细胞聚合体。近年来,有研究发现,TLTs 可在多种肾脏疾病中形成,包括 IgA 肾病^[5]、IgG4 相关的小管间质性肾炎^[6]、AKI^[7]、肾脏肿瘤^[8]、肾盂肾炎^[9]和狼疮肾炎^[10-11]等,并且在 AKI-CKD 中具有重要作用。现将 TLTs 在 AKI-CKD 中的研究进展进行综述,以探讨其作为新的肾脏炎症标志物和治疗靶点的潜力。

1 TLTs 的定义、形成和分期

近年来,有研究发现,在淋巴器官外存在一种由大量淋巴细胞聚集形成的异位淋巴组织,并将其命名为 TLTs^[12]。TLTs 中包含特定的 T 淋巴细胞区域、B 淋巴细胞区域、淋巴滤泡、生发中心(GC)及新生的血管、淋巴管,以及可使淋巴细胞通过的高内皮微静脉等结构。TLTs 在结构、功能上与次级淋巴器官(SLO),如脾、外周组织淋巴结及黏膜系淋巴结高度类似,但不同点在于 TLTs 无包膜结构,多在成年个体中形成,且没有固定的解剖位置。TLTs 可见于炎症、肿瘤、急性感染、移植后排异等疾病状况,而慢性炎症反应是这些疾病的共同病理过程,可能是 TLTs 形成的驱动因素^[13]。人们发现 TLTs 微环境具有 SLO 的部分功能,其为记忆辅助性 T 淋巴细胞提供生存的微环境,支持抗原呈递,为 B、T 淋巴细胞相互作用提供环境,并促进其进一步分化与成熟。在感染状态下,TLTs 作为局部抗病原体免疫的组成部分发挥保护作用。然而,TLTs 也会促进自身反应性的淋

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81873604)。

[△] 通信作者, E-mail: lxh@hospital.cqmu.edu.cn。

巴细胞激活,从而导致自身免疫性组织损伤^[14]。相比于 SLO, TLTs 存在高表达的趋化因子及炎症因子(如 LIGHT、CXCL13、CCL19、BAFF、APRIL 等)^[15]。

SATO 等^[9]提出, TLTs 的发育和成熟过程包括 3 个阶段,即淋巴细胞聚集、滤泡树突状细胞(FDC)形成,以及 GC 形成。基于 TLTs 中 FDC(CD21⁺)和 GC(Ki-67⁺)的存在, TLTs 可分为 3 期:Ⅰ期 TLTs 不含 FDC 和 GC;Ⅱ期 TLTs 含有 FDC 而缺乏 GC;Ⅲ期 TLTs 含有 FDC 和 GC。可通过以下特征区分早期 TLTs 及单纯淋巴细胞浸润:(1) TLTs 中淋巴细胞增殖较单纯淋巴细胞浸润活跃;(2) TLTs 中含有独特表型的成纤维细胞,如特异性 CXCL13-成纤维细胞;(3) TLTs 区域中的 B、T 淋巴细胞比例高于单纯淋巴细胞浸润区域。

2 TLTs 在 AKI-CKD 进展中的作用

近年来,越来越多的流行病学和临床研究证实, AKI 是 CKD 和 ESRD 的危险因素,即使是轻微的 AKI 也可能导致不良预后。随着 AKI 程度加重、持续时间延长和复发次数增加, CKD 和 ESKD 的风险也逐渐增加^[16]。目前研究表明, AKI-CKD 进展的病理机制涉及线粒体功能障碍、氧化应激、缺氧、表观遗传学变化、细胞周期停滞、组织细胞衰老和炎性介质分泌等^[17-19]。随着 TLTs 在多种疾病中的作用被发现,多项研究证实, TLTs 作为肾损伤后出现的炎症区域,参与了 AKI 损伤后的炎症调节,通过促炎细胞和趋化因子在 AKI-CKD 中放大炎症反应,阻碍 AKI 后组织修复和肾脏功能恢复,是 AKI-CKD 进展的重要原因。

既往研究发现,在人类 AKI 肾脏标本中存在 TLTs,且 TLTs 分布区域越广、数量越多,肾功能受损程度和促炎因子[如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和 γ 干扰素(IFN- γ)]的表达越高^[20]。GAGO 等^[21]对缺血再灌注损伤(IRI)后的老年肾脏标本进行三维形态学分析发现, TLTs 围绕动脉及淋巴管分布在包膜下、血管周围、肾小球周围及肾门,这种独特的定位可能归因于两点:(1)血管周围区域是各种器官中 TLTs 发育的起始位点,存在具有转分化为 TLTs 形成相关细胞潜力的祖细胞;(2)淋巴管运输免疫细胞和抗原,是 TLTs 发展所必需的。

SATO 等^[9]使用 IRI-AKI 小鼠模型发现,在 12 月龄小鼠肾脏中,随着缺血时间延长, TLTs 数量增加,且肾脏损伤越重,2、3 期 TLTs 占比越大。缺血时间 4 min 组小鼠 TLTs 总数、晚期 TLTs 数量和晚期 TLTs 比例均高于缺血时间 30 min 组,提示 TLTs 可能造成 AKI 加重,且损伤作用与 TLTs 成熟程度呈正相关。

为进一步确证 TLTs 在 AKI-CKD 中的作用, YOSHIKAWA 等^[22]对 IRI-AKI 后 30 d 的小鼠肾脏进行了单核 RNA 测序(snRNA-seq),显示出广泛的肾小管萎缩、间质纤维化和多发 TLTs 形成。免疫荧

光染色显示, TLTs 内部的成纤维细胞中多种促炎因子,如 CXCL9、CXCL10、IL-33 表达上调,同时, TLTs 中的成纤维细胞有助于 B 淋巴细胞募集、存活和增殖。此外,成纤维细胞和 T 淋巴细胞可能通过 CXCL9/CXCL10-CXCR3 途径发生细胞间相互作用,促进 T 淋巴细胞的募集和保留。 TLTs 可能通过内部的成纤维细胞产生促炎因子,促进 AKI 后的炎症反应,加重组织损伤,促使 AKI-CKD 发展。

TLTs 内部的淋巴细胞高表达 TNF- α 和 IFN- γ ,可促进肾小管细胞中血管细胞黏附因子(VCAM)和趋化因子的表达。免疫荧光染色显示,相比于远离 TLTs 的肾小管细胞,靠近 TLTs 的肾小管细胞中促炎信号(如 TNF 和核因子 κ B)、趋化因子和促炎因子(如 CCL2、CXCL2、CXCL10、CXCL16 和 IL-34)、黏附因子(如 VCAM1),以及促纤维化配体(TGF- β_2 、PDGF-b 和 PDGF-d)的表达增加。snRNA-seq 显示, VCAM⁺的肾小管细胞可通过多种趋化因子或促炎因子的产生,招募和激活免疫细胞,从而加剧炎症,并能激活成纤维细胞,加重纤维化。提示 TLTs 可通过促进 VCAM⁺肾小管细胞的促炎、促纤维化作用加重肾脏炎症,从而发挥炎症放大器的作用。

总之, TLTs 作为肾脏中的炎症区域,可能通过促进炎症反应,影响 AKI 后肾脏的自我修复,导致进展为 CKD,引起肾功能障碍^[23]。值得注意的是, TLTs 的发育阶段与肾组织损伤和炎症的严重程度有关,意味着 TLTs 的分期可能成为一种新的肾损伤标志物。

3 AKI-CKD 的靶向治疗策略

遗憾的是,目前临床上对于 AKI 后进展为 CKD/ESRD 的患者,除肾脏替代治疗外,暂无较好的治疗方法^[17]。 TLTs 作为肾脏中的炎症区域,促进 AKI 慢性化转归,最终引起肾功能障碍。靶向抑制 TLTs 生成、减轻肾脏炎症,有望成为未来的治疗方向。见表 1。

已有研究证实,靶向炎症环境和免疫细胞可预防 TLTs 生成,并抑制其成熟^[24]。SATO 等^[9]在 IRI-AKI 小鼠模型中,从缺血损伤后 35 d 开始给药地塞米松,用药 10 d 后,相比于对照组,治疗组小鼠的肾脏中 TLTs 体积变小,数量减少,且晚期 TLTs 比例降低。同时,治疗组小鼠体内稳态趋化因子(如 CXCL13 和 CCL19)、促炎因子、叉头状螺旋转录因子 3(Foxp3)⁺T 淋巴细胞数量和 Foxp3 表达水平也显著降低。小鼠肾纤维化也有所改善,肾功能较对照组小鼠恢复^[21]。表明地塞米松治疗可通过减少 TLTs 数量和降低 TLTs 成熟率,从而改善小鼠肾脏炎症损伤,也在一定程度上恢复了肾脏功能。然而,上述研究使用啮齿动物模型,目前尚无可靠的临床证据评估糖皮质激素治疗人 AKI 的疗效^[25]。

一项通过靶向分子信号影响 TLTs 生成的研究可能为治疗提供新方向。研究者在 IRI-AKI 小鼠模型中观察到 CD4⁺细胞数目增加,抗 CD4 单抗 GK1.5

处理小鼠后,观察到肾脏和外周血 CD4⁺ 细胞耗竭, TLTs 较对照组明显减少,表明 TLTs 的形成依赖于 CD4⁺ 细胞,同时,处理组小鼠肾脏趋化因子、促炎因子和纤维化水平均显著降低,表明应用 CD4 单抗靶向抑制 TLTs 生成可改善肾脏炎症和纤维化,进而改善肾脏功能;进一步研究发现,CD4⁺ 细胞可能通过 CD153/CD30 信号通路影响 AKI 后肾脏炎症反应,与对照组相比,CD153^{-/-} 和 CD30^{-/-} 小鼠均表现出更小的 TLTs 和更轻的肾功能障碍。因此,靶向 CD153/CD30 信号通路可能成为减缓 AKI 进展的治疗靶点^[26]。

芬戈莫德(FTY720)是一种鞘氨醇-1-磷酸受体调节剂,有报道称,其能有效抑制淋巴细胞聚集^[27]。

LUO 等^[28] 在 IRI-AKI 小鼠中使用 FTY720 发现,经 FTY720 处理后的小鼠肾脏中的 TLTs 明显较小,值得注意的是,FTY720 显著减轻了肾纤维化,降低了纤维化标志物和炎症因子水平。

有研究发现,在 IRI-AKI 肾脏中 IL-17A、IL-23r 和 STAT3 表达显著增加。IL-17A 基因敲除小鼠肾脏中的 TLTs 较野生型小鼠数量减少,且肾脏纤维化减轻,促炎因子和纤维化标志物表达也显著降低,包括 LT α 、LT β 、CXCL13 和 CCL19 在内的稳态趋化因子的表达也减少,对 IRI-AKI 小鼠注射 IL-17A 抗体后发现,TLTs 的形成减少,肾脏淋巴细胞数目减少和肾脏纤维化减轻。表明抗 IL-17A 治疗可能通过抑制 TLTs 介导的炎症来改善预后^[28]。

表 1 靶向肾脏 TLTs 的治疗药物

药物名称	机制	模型	作用效果
地塞米松	抑制稳态趋化因子(如 CXCL13 和 CCL19)、促炎因子、Foxp3 ⁺ T 淋巴细胞数量和 Foxp3 表达水平 ^[25]	IRI-AKI 小鼠	小鼠肾脏中 TLTs 体积变小,数量减少,且晚期 TLTs 比例降低;肾纤维化改善,肾功能较对照组小鼠恢复
抗 CD4 单抗	可能通过抑制 CD153/CD30 信号通路 ^[26]	IRI-AKI 小鼠	小鼠肾脏和外周血 CD4 ⁺ 细胞耗竭,TLTs 较对照组明显减少,肾脏趋化因子、促炎因子和纤维化水平均显著降低
芬戈莫德	抑制淋巴细胞聚集 ^[27]	IRI-AKI 小鼠	肾脏中的 TLTs 明显较小,肾纤维化减轻,纤维化标志物和炎症因子水平降低
IL-17A 抗体	抑制 IL-17A 表达 ^[28]	IRI-AKI 小鼠	TLTs 的形成减少,肾脏淋巴细胞数目减少和肾脏纤维化减轻。

4 小结与展望

目前,AKI 发病率、透析率及病死率仍处于高位。AKI 患者体内的炎症状态又促进其向 CKD,甚至 ESRD 进展,所以,目前迫切需要能够阻断 AKI-CKD 进展过程、改善肾脏功能的新药出现。作为肾脏中的炎症区域,TLTs 在 AKI-CKD 中发挥重要作用,可能成为包括 AKI 在内的肾脏疾病的治疗新靶点。然而,目前对肾脏 TLTs 的抑制策略仅局限于啮齿动物,未来需要更多的临床试验以验证其在人体中的疗效。总之,认识到 TLTs 在 AKI-CKD 中的重要作用,为理解其机制和开发治疗策略提供了新的方向。然而,未来还需要进一步的研究来充分阐明 TLTs 在肾脏中发挥的作用及分子机制,并将这些发现转化为有效的临床治疗方法。

参考文献

[1] LEVEY A S. Defining AKD: The spectrum of AKI, AKD, and CKD[J]. *Nephron*, 2022, 146 (3):302-305.

[2] HOSTE E A J, KELLUM J A, SELBY N M, et al. Global epidemiology and outcomes of acute kidney injury [J]. *Nat Rev Nephrol*, 2018, 14 (10):607-625.

[3] GUZZI F, CIRILLO L, ROPERTO R M, et al. Molecular mechanisms of the acute kidney injury to chronic kidney disease transition: An updated view [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20 (19): 4941.

[4] SATO Y, TAKAHASHI M, YANAGITA M. Pathophysiology of AKI to CKD progression [J]. *Semin Nephrol*, 2020, 40(2):206-215.

[5] PEI G, ZENG R, HAN M, et al. Renal interstitial infiltration and tertiary lymphoid organ neogenesis in IgA nephropathy[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014, 9(2):255-264.

[6] MIYANAGA T, MIZUGUCHI K, HARA S, et al. Tertiary lymphoid tissue in early-stage IgG4-related tubulointerstitial nephritis incidentally detected with a tumor lesion of the ureteropelvic junction: A case report[J]. *BMC Nephrol*, 2021, 22(1):34.

[7] SATO Y, MII A, HAMAZAKI Y, et al. Heterogeneous fibroblasts underlie age-dependent tertiary lymphoid tissues in the kidney[J]. *JCI Insight*, 2016, 1(11):e87680.

[8] PITZALIS C, JONES G W, BOMBARDIERI

- M, et al. Ectopic lymphoid-like structures in infection, cancer and autoimmunity [J]. *Nat Rev Immunol*, 2014, 14(7): 447-462.
- [9] SATO Y, BOOR P, FUKUMA S, et al. Developmental stages of tertiary lymphoid tissue reflect local injury and inflammation in mouse and human kidneys [J]. *Kidney Int*, 2020, 98(2): 448-463.
- [10] JAMALY S, RAKAEE M, ABDI R, et al. Interplay of immune and kidney resident cells in the formation of tertiary lymphoid structures in lupus nephritis [J]. *Autoimmun Rev*, 2021, 20(12): 102980.
- [11] MASUM M A, ICHII O, ELEWA Y H A, et al. Vasculature-Associated lymphoid tissue: A unique tertiary lymphoid tissue correlates with renal lesions in lupus nephritis mouse model [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 595672.
- [12] PICKER L J, BUTCHER E C. Physiological and molecular mechanisms of lymphocyte homing [J]. *Annu Rev Immunol*, 1992, 10: 561-591.
- [13] HELMINK B A, REDDY S M, GAO J J, et al. B cells and tertiary lymphoid structures promote immunotherapy response [J]. *Nature*, 2020, 577(7791): 549-555.
- [14] SATO Y, TAMURA M, YANAGITA M. Tertiary lymphoid tissues: A regional hub for kidney inflammation [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2023, 38(1): 26-33.
- [15] CICCIA F, RIZZO A, MAUGERI R, et al. Ectopic expression of CXCL13, BAFF, APRIL and LT- β is associated with artery tertiary lymphoid organs in giant cell arteritis [J]. *Ann Rheum Dis*, 2017, 76(1): 235-243.
- [16] KURZHAGEN J T, DELLEPIANE S, CANTALUPPI V, et al. AKI: An increasingly recognized risk factor for CKD development and progression [J]. *J Nephrol*, 2020, 33(6): 1171-1187.
- [17] JIANG M Z, BAI M, LEI J, et al. Mitochondrial dysfunction and the AKI-to-CKD transition [J]. *Am J Physiol Renal Physiol*, 2020, 319(6): F1105-F1116.
- [18] WANG Z W, ZHANG C. From AKI to CKD: Maladaptive repair and the underlying mechanisms [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(18): 10880.
- [19] RAYEGO-MATEOS S, MORGADO-PASCUAL J L, RODRIGUES-DIEZ R R, et al. Connective tissue growth factor induces renal fibrosis via epidermal growth factor receptor activation [J]. *J Pathol*, 2018, 244(2): 227-241.
- [20] NAYAR S, CAMPOS J, SMITH C G, et al. Immuno-fibroblasts are pivotal drivers of tertiary lymphoid structure formation and local pathology [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2019, 116: 13490-13497.
- [21] GAGO D G C, VAN BAARSEN L G M, MEBIUS R E. Tertiary lymphoid structures: Diversity in their development, composition, and role [J]. *J Immunol*, 2021, 206(2): 273-281.
- [22] YOSHIKAWA T, OGUCHI A, TORIU N, et al. Tertiary lymphoid tissues are microenvironments with intensive interactions between immune cells and proinflammatory parenchymal cells in aged kidneys [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2023, 34(10): 1687-1708.
- [23] ROBSON K J, KITCHING A R. Tertiary lymphoid tissue in kidneys: Understanding local immunity and inflammation [J]. *Kidney Int*, 2020, 98(2): 280-283.
- [24] ATIF S M, MACK D G, MCKEE A S, et al. Protective role of B cells in sterile particulate-induced lung injury [J]. *JCI Insight*, 2019, 5(12): e125494.
- [25] FORMECK C L, MANRIQUE-CABALLERO C L, GÓMEZ H, et al. Uncommon causes of acute kidney injury [J]. *Crit Care Clin*, 2022, 38(2): 317-347.
- [26] SATO Y, OGUCHI A, FUKUSHIMA Y J, et al. CD153/CD30 signaling promotes age-dependent tertiary lymphoid tissue expansion and kidney injury [J]. *J Clin Invest*, 2022, 132(2): e146071.
- [27] BRAVO G Á, CEDEÑO R R, CASADEVALL M P, et al. Sphingosine-1-Phosphate (S1P) and S1P signaling pathway modulators, from current insights to future perspectives [J]. *Cells*, 2022, 11(13): 2058.
- [28] LUO R, CHENG Y C, CHANG D, et al. Tertiary lymphoid organs are associated with the progression of kidney damage and regulated by interleukin-17A [J]. *Theranostics*, 2021, 11(1): 117-131.

(收稿日期: 2023-12-04 修回日期: 2024-02-21)