

免疫赦免在小鼠角膜移植排斥中的作用研究

黄晓环¹, 吴京², 于健¹, 熊柯¹, 刘琼¹

基金项目: 中国广东省自然科学基金资助项目(No. 9151051501000047); 南方医科大学南方医院院长基金重点资助项目(No. 2008A001)

作者单位: (510515) 中国广东省广州市, 南方医科大学南方医院¹眼科; ²惠侨科

作者简介: 黄晓环, 在读硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 角膜病。

通讯作者: 吴京, 副主任医师, 副教授, 研究方向: 角膜病. wujing@fimmu. com

收稿日期: 2011-03-10 修回日期: 2011-04-12

Study of immune privilege in the model of mice corneal transplantation

Xiao-Huan Huang¹, Jing Wu², Jian Yu¹, Ke Xiong¹, Qiong Liu¹

Foundation items: Natural Science Foundation of Guangdong Province, China(No. 9151051501000047); Key Project of Nanfang Hospital, Southern Medical University(No. 2008A001)

¹Department of Ophthalmology; ²Huiqiao Department, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China

Correspondence to: Jing Wu. Huiqiao Department, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. wujing@fimmu. com

Received: 2011-03-10 Accepted: 2011-04-12

Abstract

• **AIM:** To study the correlation of immune rejection and immune privilege in homogeneity variant mice corneal transplantation model.

• **METHODS:** The experimental animal model of mice normal position corneal graft and allograft was established successfully. Then, we observed the immune rejection of the two kinds graft model. The transplantation corneal survival rate was compared and analyzed according to the Sonoda method.

• **RESULTS:** All the graft corneas following normal position transplantation were alive, compared with only 25% of allograft cornea alive.

• **CONCLUSION:** Immune rejected reaction in mice corneal transplantation is not always happened and immune privilege plays a very important role in cornea graft.

• **KEYWORDS:** immune privilege; mice; corneal transplantation

of mice corneal transplantation. *Guoji Yanke Zazhi(Int J Ophthalmol)* 2011;11(5):772-774

摘要

目的: 阐明同种异体小鼠角膜移植术后免疫排斥反应及免疫赦免的相关性。

方法: 建立小鼠原位角膜移植及同种异体小鼠角膜移植实验模型。观察原位移植与同种异体移植术后角膜植片发生排斥的情况, 对比两种移植术后植片的存活率, 了解小鼠角膜移植术后发生排斥反应与免疫赦免反应之间的关系。

结果: 小鼠原位角膜移植术后植片 100% 存活; 同种异体小鼠角膜移植术后存活率为 25%。

结论: 小鼠角膜移植术后免疫排斥并非绝对, 免疫赦免在角膜移植术中发挥重要作用。

关键词: 免疫赦免; 小鼠; 角膜移植

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-5123. 2011. 05. 007

黄晓环, 吴京, 于健, 等. 免疫赦免在小鼠角膜移植排斥中的作用研究. 国际眼科杂志 2011;11(5):772-774

0 引言

角膜移植是治疗不可逆角膜盲最重要的手段。在所有器官移植中, 角膜移植是成功率最高的手术。尽管如此, 术后免疫排斥仍是导致角膜植片失败的最常见原因。角膜移植免疫排斥反应主要是以 T 淋巴细胞介导的迟发型超敏反应。T 细胞的激活通常需要两个信号刺激: 一个是 T 细胞通过其表面的 TCR 识别抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC) 递呈的抗原肽; 主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC); 另一个是非 MHC 限制的协同刺激信号, 即 APC 上的共刺激分子与 T 细胞表面的相应受体的结合。共刺激信号对 T 细胞特异性抗原激活是必需的, 并具有启动、维持以及调节活化级联反应的作用^[1], 决定了 T 细胞是活化增殖, 还是抑制或转变为无反应状态以及凋亡。随着研究的深入, 共刺激分子在角膜移植免疫排斥反应或免疫赦免中的重要作用逐渐揭示。我们建立同种异体小鼠角膜移植模型, 探讨角膜移植术后免疫排斥及免疫赦免的关系, 为进一步研究角膜移植术后免疫排斥或免疫赦免的过程及发生机制做好铺垫。

1 材料和方法

1.1 材料 实验小鼠均为清洁小鼠(SPF 级), 供体: C57BL/6; 受体: Balb/c 小鼠, 8~10 周龄, 雌性, 18~22g。受体小鼠右眼为手术眼, 供体小鼠过量麻醉后双眼取材。两种小鼠均由南方医科大学动物实验室饲养。两种小鼠的 MHC 及次要组织相容性抗原(minor histocompatibility antigens, minor H) 均不同。3g/L 戊巴比妥钠注射液; 复方托品酰胺; 泰利必妥眼膏及眼液。

1.2 方法 检查供受体小鼠,无角膜白斑者入选,按随机方法分为2组。A组(12例)供体 Balb/c→受体 Balb/c; B组(12例)供体 C57BL/6→受体 Balb/c。按 30g/L 戊巴比妥钠注射液:蒸馏水 = 1:9 稀释至 3g/L,0.5mL ip 麻醉供受体小鼠;复方托品酰胺滴眼散瞳,剪眼睫毛,生理盐水冲洗结膜囊,置于手术床上;先行受体小鼠手术:固定眼球,1.5mm 直径环钻刀环钻角膜,角膜 15° 穿刺刀穿刺进入前房,避免损伤晶状体,角膜剪扩大切口,注入黏弹剂保持前房,沿环钻印迹顺时针剪开去除角膜,表面滴 PBS 液待用;供体小鼠手术同上操作,2.0mm 直径环钻刀环钻角膜,留取最后连接,对侧以 11/0 尼龙线在植片上缝取一针,留针线,表面滴 PBS 液待用;将供体植片移入受体植床中,以 11/0 尼龙线间断缝合 8 针,不埋线;结膜囊涂泰利必妥眼膏,以 1/0 缝线间断缝合眼睑 1 针,术毕;动物尾部标记。待醒后送入养育室,每笼 4 只。移植术后 1wk 拆除睑缝线和角膜缝线,任何术中发生前房出血、术后发生虹膜粘连及白内障者均视为手术失败,不纳入实验组,最后 A、B 组各有 8 例符合实验条件。术后每天滴用泰利必妥眼液 1 次,移植术后 7d 拆线,拆线后隔日在裂隙灯下观察角膜植片的情况。对角膜混浊及新生血管指数进行评分,观察 8wk,一般认为角膜植片存活时间 > 50d,即为长期存活^[2,3]。作病理组织学检查,评分标准:植片混浊 ≥ 2 分或总和超过 ≥ 5 分判定为免疫排斥反应(表 1)。

2 结果

A 组 1wk 时 8 例角膜植片均表现为轻到中等水肿、混浊,2~3wk 角膜植片水肿混浊开始减轻,3wk 时已有 6 例角膜植片转透明,4wk 起所有植片均转为透明;1wk 时 5 例角膜植床出现新生血管,3 例植片边缘出现新生血管,3wk 开始所有植片新生血管逐渐减少,8wk 时所有植片均转透明,新生血管消失,角膜植片 100% 存活,结果与国内外报道相符^[2,4]。B 组 1wk 时角膜植片为轻到中等水肿、混浊,2~3wk 有 1 例角膜植片转透明,大部分角膜植片水肿减轻,但混浊加重,2~3 例前房结构逐渐模糊;4~8wk 时有 2 例角膜植片转透明,余 6 例出现中度至重度混浊,其中 1 例前房窥不见。1wk 时 4 例角膜植床出现新生血管,4 例角膜植片边缘出现新生血管增生,植片基质未见新生血管;2~4wk 新生血管增多,约 50% 植片出现基质新生血管,4wk 时有 1 例角膜植片新生血管消失,植片转透明,5 例植片出现基质新生血管;8wk 时 1 例植片新生血管完全消失,1 例仅植床少量新生血管,植片透明,余 6 例植片均出现范围不等新生血管,其中 2 例新生血管爬入植片中央基质层(图 1)。2 例角膜植片 RI 总评分 < 5 分,6 例角膜植片 RI 总评分 > 5 分或混浊 > 2 分,评为排斥,存活率为 25% (2/8),结果比国外文献报道低^[2](同种异体小鼠角膜移植存活率为 50%)。

3 讨论

移植排斥反应是导致角膜移植手术失败的主要原因,因此,研究角膜移植排斥反应的病理过程及发病机制,对寻找有效的治疗途径具有重要意义。在大量关于鼠类角膜移植研究中,角膜植片混浊被认为是排斥反应的重要表现,其次还有细胞浸润、植片水肿、新生血管长入等^[4],然而这些表现都会与植片混浊的表现密切相关。本实验通过建立小鼠同种异体角膜移植模型,观察原位移植与同种异体移植术后角膜植片发生排斥的情况,对比两种移植术

表 1 角膜混浊及新生血管指数及评分

分值	角膜	角膜新生血管
0	透明	植片无新生血管
1	轻度混浊	长入植床 1~2 个象限
2	混浊加重、前房结构依然清楚	长入植床 3~4 个象限
3	明显混浊、前房结构模糊不清	长入植片边缘 1~2 个象限
4	白色混浊、前房不入	长入植片边缘 3~4 个象限
5		长入植片周边基质 1~2 个象限
6		长入植片周边基质 3~4 个象限
7		长入植片中央基质 1~2 个象限
8		长入植片中央基质 3~4 个象限

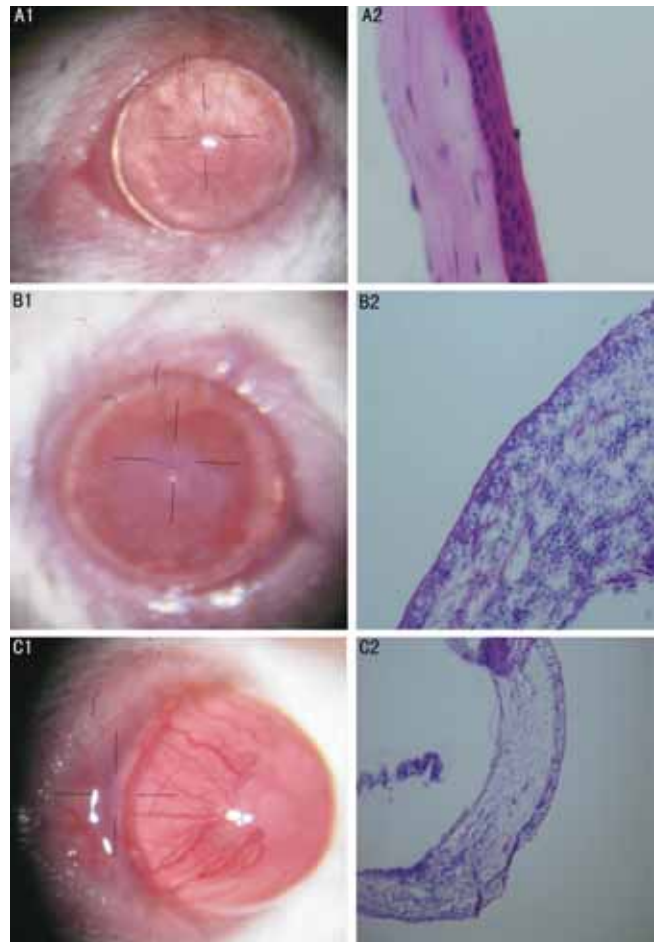


图 1 小鼠角膜移植后 8wk 病理观察 A:角膜植片透明;B:角膜植片混浊;C:角膜植片出现新生血管。

后植片不同的存活率,了解小鼠角膜移植术后发生排斥反应与免疫赦免反应之间的关系。本实验研究发现,自体角膜移植组角膜移植术后移植片不发生排斥反应;同种异体角膜移植组两种小鼠 MHC 及 minor H 均不同,移植术后 8wk 角膜植片排斥率为 75% (6/8),存活率为 25% (2/8)。实验结果表明,同种异体小鼠角膜移植术后,并非所有角膜植片全出现排斥反应,说明移植术后免疫排斥反应并非绝对,角膜免疫赦免在角膜移植术后植片存活过程中发挥重要作用,这也是在所有器官移植术中角膜移植手术成功率最高的原因。

目前认为,角膜的免疫赦免不仅与角膜的无血管因素有关,更与前房有关,称之为前房相关性免疫偏离。国内外大量鼠角膜移植实验发现,共刺激分子中的 B7 家族在角膜移植免疫赦免中发挥重要作用,参与了 T 淋巴细胞的

增殖、免疫应答或程序性凋亡^[3,5,6],但具体的免疫赦免发生机制目前还不清楚。因此我们此后的实验研究建立在 MHC 及 minor H 均不同的小鼠同种异体角膜移植模型之上,研究共刺激分子在小鼠同种异体角膜移植免疫赦免中的作用及机制。

参考文献

1 Dong C, Nurieva RI, Prasad DV. Immune regulation by novel costimulatory molecules. *Immunol Res* 2003;28(1):39-48
2 Hori J, Wang M, Miyashita M, et al. B7-H1-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege of corneal allografts. *J Immunol* 2006;177(9):5928-5935

3 Hara Y, Kitazawa Y, Funeshima N, et al. Anergic lymphocytes generated by blocking CD28 and ICOS pathways *in vitro* prolong rat cardiac graft survival. *Int Immunopharmacol* 2006;6(7):1143-1151

4 闫峰,蔡莉,惠延年,等. TGF β_2 -DC 对小鼠同种异体角膜移植排斥反应的抑制作用. *国际眼科杂志* 2007;7(2):346-349

5 Dong H, Zhu G, Tamada K, et al. B7-H1, a third member of the B7 family, co-stimulates T-cell proliferation and interleukin-10 secretion. *Nat Med* 1999;5(12):1365-1369

6 朱一蓓,张光波,周迎会,等. B7-H3 单抗交联作用对 Mo-DC 体外生物学功能的影响. *现代免疫学* 2008;28(2):116-120

《国际眼科杂志》英文版自 2011 年改为双月刊

《国际眼科杂志》英文版 International Journal of Ophthalmology (English edition) 于 2008 年创刊,2010 年 9 月已成功地被 SCIE 正式收录,收录时间从 2008 年第 1 卷第 1 期开始。这是我国惟一被国际最权威检索机构 SCIE 收录的眼科专业学术期刊。值此,我们特别感谢国内外全体编委和广大眼科专家及作者对本刊的宝贵指导和大力支持!

应广大编委和作者及读者的强烈要求,并为加速本刊发展,经主管部门审批,《国际眼科杂志》英文版自 2011 年第 1 期起由季刊改为双月刊,每逢双月 18 日出版,国际标准刊号 ISSN 6172-5123,国内统一刊号 CN 61-1419/R。定价:每期 30 元,全年 180 元。改刊后,我们将继续坚持让中国眼科走向世界,让世界眼科关注中国的办刊宗旨,并为广大作者及读者提供更加尊贵、优质、快捷的服务。IJO 将和国内外眼科专家学者共同努力为促进我国及世界眼科事业的发展做出新的更大的贡献!

欢迎指导! 欢迎投稿! 欢迎订阅!

电 话:029-82245172 029-82210956
传 真:029-82245172
邮 箱:IJO. 2000@ 163. com IJO2000@ 126. com
网 址:www. ijo. cn