

角膜移植排斥反应的发生及药物治疗进展

王梦, 刘焰

作者单位:(200080)中国上海市,上海交通大学医学院附属第一人民医院眼科

作者简介:王梦,女,在读硕士研究生,研究方向:眼表疾病。

通讯作者:刘焰,女,主任医师,硕士研究生导师,上海市器官移植临床医学中心角膜移植负责人,上海市视觉复明临床医学中心眼表疾病负责人,中华医学会上海眼科分会角膜组副组长兼秘书,研究方向:眼表面疾病. liuyan0623@sina.com

收稿日期:2011-11-25 修回日期:2012-02-23

Corneal graft rejection and drugs therapy

Meng Wang, Yan Liu

Department of Ophthalmology, Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200080, China

Correspondence to: Yan Liu. Department of Ophthalmology, Affiliated First People's Hospital of Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200080, China. liuyan0623@sina.com
Received:2011-11-25 Accepted:2012-02-23

Abstract

• Corneal graft rejection has been the primary problem to impact the patients on recovering sights. Many new immunosuppressive agents have been investigated and acquired satisfactory curative effects. The purpose of this article is to review the different clinical types and mechanism of corneal graft rejection, and the different drugs of therapy.

• **KEYWORDS:** corneal graft rejection; clinical types; immunosuppressive agent

Wang M, Liu Y. Corneal graft rejection and drugs therapy. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2012;12(4):664-666

摘要

角膜移植排斥反应多年来一直是困扰角膜移植患者复明的首要问题,目前许多新型的免疫抑制剂已逐渐应用于临床,有望成为治疗角膜移植排斥反应的有效药物。本文主要对角膜移植术后免疫排斥反应的临床类型,发生的机制以及治疗移植排斥反应药物的应用进展进行综述。

关键词:角膜移植排斥反应;临床类型;免疫抑制剂

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2012.04.19

王梦,刘焰.角膜移植排斥反应的发生及药物治疗进展.国际眼科杂志 2012;12(4):664-666

0 引言

我国约有300万因角膜病致盲的患者,角膜移植术是

这些患者的重要复明手段,近年随着科技的进步,使角膜移植术成功率有了较大的提高,但对于复杂的高危角膜移植患者,术后的免疫反应致角膜植片的存活率小于35%^[1]。传统的免疫抑制剂皮质类固醇、硫唑嘌呤、环孢霉素A(cyclosporin A, CsA)等已经常规应用于角膜移植排斥反应,一些新型免疫抑制剂如他克莫司、雷帕霉素(rapamycin, RAPA)也逐渐开始应用于临床,尤其是RAPA,其抑制移植免疫排斥反应的效果比环孢素A强50倍,比塔克罗姆(tacrolimus, FK506)强30倍^[2],并对新生血管有很强的抑制作用,具有很大的临床应用价值。

1 角膜移植排斥反应的发生

1.1 角膜移植排斥反应的临床类型 上皮型排斥反应:早期自觉症状不明显,不及时治疗后造成持续的上皮排斥线,始于角膜缘部,逐渐向中央进展,这个过程从几天到几周不等。上皮下渗出型排斥反应:表现为前弹力层下方的白色沉着物,平均在术后10mo左右发生,年轻患者容易出现。基质型排斥:发生率2.4%~15%,是最不常见的一型,常有植片水肿、混浊、增厚,并伴有新生血管伸入。长期重复的炎症刺激下基质甚至可发生坏死。慢性的基质型排斥发生在术后6wk~21mo,对皮质类固醇治疗有效,排斥本身并不凶险,但是此型的发生预示着宿主免疫反应的激活和内皮型排斥的开始,可以持续性地影响上皮致上皮缺失,基质混浊、坏死、后弹力层突出、穿孔^[3]。内皮型排斥:最重要且最常见的类型,发生率8%~37%,常发生在术后8mo左右,内皮细胞死后不能再生,常有红、痛、视力下降的症状,可发现结膜充血、水肿、房闪、KP,并有基质水肿增厚,后弹力层弥散性或扇形折叠,年轻患者和角膜新生血管的患者容易出现。

1.2 角膜排斥反应的发生机制 正常角膜处于相对的“免疫赦免”区,角膜移植片的长期存活与前房相关免疫偏离有关,角膜的免疫赦免是一极其复杂的和动态的免疫调节过程^[4]。供体和受体的抗原提呈细胞(APCs)在激活宿主免疫系统中起了重要的作用。已经证实角膜中央确实存在APCs,有趣的是,他们只有在受到像角膜移植这样的刺激时刺激才表达主要组织相容性抗原(MHC)^[5]。Dana等^[6]研究证明角膜血管化可导致前房相关性免疫偏离丧失,其原因主要是大量LC打破了血眼屏障进入角膜中央区和旁中央区,植片中LC是正常情况下的3倍,大量APC的浸润破坏了角膜的免疫赦免状态。其次,形态学研究证明,新生血管的生长常伴随淋巴管的生成^[7],淋巴管作为角膜排斥反应的输入弧,可将抗原片段引流入局部淋巴结,引起强烈的免疫应答。新生淋巴管与VEGF亚型A和C(VEGF-A和VEGF-C)及VEGF受体(VEGF-R3)相关^[8],但是并不是所有的角膜移植都会有新生血管和淋巴管生成,这个事实提示了在移植角膜中可能自然存在有抗血管生成的因子,FasL是一种调节细胞凋亡的分子,通过与细胞表面的受体Fas结合发挥作用,它有mFasL和

sFasL 两种相互对抗的形式^[9],有研究证实 sFasL 由内皮细胞产生,其高水平表达与角膜移植排斥反应相关。高危角膜移植就是指血管化角膜,大植片移植,植片偏中心及眼表炎症等,此部分患者血眼屏障遭到破坏,角膜植片的存活率大大降低。

1.3 参与角膜移植排斥反应的细胞因子 参与角膜移植免疫排斥反应的主要是 T 细胞。T 细胞主要分为 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞两种,在排斥反应早期,角膜移植片内已有 CD4⁺,CD8⁺T 淋巴细胞浸润^[10],在 CD4 和 CD8 基因敲除小鼠角膜移植实验显示 CD4⁺细胞在角膜移植术后免疫排斥反应中起关键作用,而 CD8⁺细胞可能与 CD4⁺细胞有协同和加强免疫排斥的作用^[11],CD4⁺T 细胞通过迟发型超敏反应(DTH)参与介导排斥反应。在 DTH 中,活化的 CD4⁺T 细胞分化为 1 型辅助性 T 细胞(Th1)、2 型辅助性 T 细胞(Th2)或 3 型辅助性 T 细胞(Th3)^[12]。

1.3.1 Th1 因子 Th1 细胞产生的细胞因子称为 Th1 因子或 1 型细胞因子,主要包括白细胞介素 2(IL-2)、 γ 干扰素(IFN- γ)等。IL-2 与其受体(IL-2R)高亲和力结合发挥效应,多年来被认为在体内负责细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的活化增殖。因此利用抗 IL-2R 抗体阻断 IL-2 信号途径可以抑制器官移植排斥反应。IL-2 诱导 Th 细胞分泌 IFN- γ ,IFN- γ 再与 IL-1 和 IL-2 协同作用诱导 T 细胞表面 IL-2 受体的表达,起到放大 IL-2 功能的作用。

1.3.2 Th1 和 Th2 共同分泌的因子 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等。TNF- α 主要由巨噬细胞等分泌,在器官移植和炎症反应中,诱导 Th 细胞因子如 IL-6,IFN- γ ,GM-CSF 等的分泌,从而放大并扩展其自身的效应。TNF- α 对于角膜的作用复杂。一定量的 TNF- α 可以诱导前房相关性免疫偏离(ACAID),并参与 Fas/FasL 相互作用从而使趋化的炎细胞凋亡。大量的 TNF- α 则趋化朗罕氏细胞侵入角膜上调 ICAM-1 的表达并诱导新生血管生成。

1.3.3 Th3 因子 转化生长因子 TGF- β 是一种比 CsA 还要强效的免疫抑制因子。其机制为抑制胸腺细胞、杀伤细胞的分化和增殖,下调 IL-1R 的表达,诱导人外周血单核细胞 IL-1R 拮抗蛋白的产生而起抑制 IL-1 的作用;下调巨噬细胞表面 MHC-II 的表达,或干扰树突状细胞成熟从而使 T 细胞失去功能而诱导免疫耐受。眼前房存在大量 TGF- β ,它们在诱导免疫耐受方面发挥重要作用^[13]。

1.3.4 IL-1 主要由单核巨噬细胞分泌,由其介导的郎格罕斯细胞移行至角膜植片是启动排斥反应的关键步骤,是参与角膜移植排斥反应的重要细胞因子^[14]。

2 免疫抑制剂在角膜移植排斥反应的应用

预防和治疗角膜移植排斥反应的免疫抑制剂主要包括类固醇激素、细胞毒素剂、环孢霉素 A、他克莫司和雷帕霉素。皮质类固醇激素作为免疫抑制药物用于临床的历史已经很长。角膜移植术后局部和全身应用已成为术后处理的重要组成部分。常规治疗剂量下,可以减少淋巴细胞产生细胞因子,影响 T 细胞激活及细胞间的免疫黏附。该药物的免疫抑制作用与其用药剂量密切相关。对于一些比较严重的排斥反应,常规给药剂量往往难以奏效,且易反复发作,用甲基强的松龙 125~500mg 一次性静脉滴注,然后给予维持量皮质激素,可获得较满意的疗效^[15,16]。但是长期应用激素具有许多副作用,如引起代

谢紊乱、高血糖、高血压,许多术后并发症与使用大量激素有关,有学者认为冲击量治疗能快速控制并逆转排斥反应,对此学术界尚有争论。细胞毒素剂如硫唑嘌呤,曾与激素联合应用于移植排斥反应的治疗^[17],可以降低激素的用量减少激素引发的副反应。但是硫唑嘌呤自身也可引发骨髓抑制,具有肝毒性和胃肠毒性。

环孢霉素 A 从多孢霉菌和柱孢霉素的代谢物中分离提取,是一种强效抑制剂,主要抑制 Th 细胞产生淋巴因子,特别是 IL-2 的产生和 IL-2 受体的表达,从而抑制 Tc 细胞的产生,同时并不抑制 Ts 细胞、M Φ 细胞和 B 细胞,不影响免疫耐受的形成。CsA 在眼部可以用于眼球表面疾病的治疗,并能有效的延迟或避免角膜移植排斥反应的发生。可以局部或全身应用。对于高危角膜移植患者,全身应用其血药浓度需保持在 130~170 μ g/mL。然而,全身用药的副作用也很明显,主要为肝、肾毒性、高血压、胃肠道反应、神经紊乱(震颤、惊厥、神经痛、精神错乱、共济失调、四肢瘫痪、昏迷等)、牙龈增生等,一般停药后可消失,用药期间应检测肝功能。

他克莫司是一种从真菌内提取出的大环内酯类抗生素,具有潜在的免疫抑制作用,因此作为一种新型强效的免疫抑制剂,同环孢霉素有相似的作用机制:通过抑制混合淋巴细胞反应和细胞毒性 T 细胞来发挥免疫抑制作用,据报道其免疫抑制强度是环孢霉素 A 的 10~100 倍。有研究证实他克莫司滴眼液能成功防治角膜移植后免疫排斥反应,但是他克莫司滴眼给药途径对高危角膜移植后内皮层排斥反应的长期效果并不十分理想^[18]。在对兔高危角膜移植后免疫排斥反应的研究中证实,前房内植入他克莫司药物缓释系统能够长时间维持房水内的他克莫司药物浓度,抑制角膜植片内 IL-2 受体 α 、单核细胞趋化蛋白 1、Fas 及 FasLmRNA 的表达,可长期有效地抑制高危角膜移植后免疫排斥反应的发生^[19]。

雷帕霉素亦称西罗莫司(sirrolimus),是从吸水链霉菌(streptomyces hygroscopicus)提取的一种亲脂性三烯含氮大环内酯抗生素类免疫抑制剂。具有高效免疫抑制作用,其 IC₅₀为环孢素 A 的 1%^[20]。RAPA 是 31 元环所构成的化合物,其分子式是 C₁₅H₇₉NO₁₃,为白色粉末,熔点 183 $^{\circ}$ C~185 $^{\circ}$ C,微溶于水,易溶于甲醇、乙醇、氯仿等有机溶剂。当排斥反应发生时,刺激细胞增生的信号通过 IL-2 受体或生长因子受体激活磷酸酰肌醇 3 激酶(PI₃K)链,导致蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB)活化。PKB 直接激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)^[21],从而促进 T 细胞及其他细胞的增生。mTOR 是一种多功能激酶,同有丝分裂原的刺激、蛋白合成、细胞周期进程有关,在淋巴细胞的共刺激活化和细胞周期过程中均存在^[22],mTOR 的突变可对 RAPA 产生耐受。RAPA 结合在亲免疫蛋白-FK506 结合蛋白(FK 506-binding protein, FKBP)上,形成 RAPA-FKBP-12 复合物,抑制 mTOR 的丝氨酸/苏氨酸激酶的活性,阻断 T 淋巴细胞及其他细胞由 G1 期至 S 期的增生进程,也就对 DTH 产生抑制作用。

雷帕霉素对新生血管也具有抑制作用,对于基质型排斥反应和内皮型排斥反应都有很好的疗效,其抑制新生血管的作用机制可能为一方面通过抑制 PMN 等炎症细胞从而下调 VEGF 等细胞因子的释放,减少了促进新生血管生长的一重要细胞因子。另一方面通过抑制 PMN、淋巴细胞等细胞的活化,抑制免疫炎症细胞向角膜的浸润,抑制

白介素等炎性因子的释放,减轻角膜的免疫炎症反应,减轻角膜组织的损伤。还可抑制血管内皮细胞的增生、迁移,从而多层次抑制新生血管的生长^[23]。

RAPA 可以全身或局部应用,现已研究出 RAPA 的各种缓释剂可以在房水中维持一定浓度,RAPA 全身用药常出现胃肠不适、白细胞减少、高甘油三酯血症、高胆固醇血症等不良反应^[24,25]。

目前临床对于角膜移植排斥反应的治疗仍以皮质类激素及 CsA 为主,新型免疫抑制剂常与 CSA 联合用药,使 CSA 的用药量减少一半以上,并达到相同的治疗效果,从而有效地减少应用 CSA 带来的副作用。新型的药物拥有更好的发展前景,为角膜移植的患者带来了福音。

参考文献

- 1 陆燕,邹留河,吕岚,等.大鼠角膜移植排斥动物模型的建立.实验动物科学与管理 2002;19(3):8-11
- 2 Chang JY, Sehgal SN. Pharmacology of rapamycin: a new immunosuppressive agent. *Br J Rheumatol* 1991;30(2):62-65
- 3 Panda A, Vanathi M, Kumar A, et al. Corneal graft rejection. *Surv Ophthalmol* 2007;52(4):375-396
- 4 史伟云,谢立信.高危角膜移植.眼科新进展 1999;19(1):1
- 5 Liu Y, Hamrah P, Zhang Q, et al. Draining lymph nodes of corneal transplant hosts exhibit evidence for donor major histocompatibility complex (MHC) class II-positive dendritic cells derived from MHC class II-negative grafts. *J Exp Med* 2002; 195(2):259-268
- 6 Dana MR, Streilein JW. Loss and restoration of immune privilege in eyes with corneal neovascularization. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1996; 37(12):2485-2494
- 7 Breiteneder-Geleff S, Alitalo K, Jackson D. Lymphatic vessels in vascularized human corneas; immunohistochemical investigation using LYVE-1 and podoplanin. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002;43(7):2127-2135
- 8 Mimura T, Amano S, Usui T, et al. Expression of vascular endothelial growth factor C and vascular endothelial growth factor receptor 3 in corneal lymphangiogenesis. *Exp Eye Res* 2001;72(1):71-78
- 9 Sano Y, Sotozono C. Role of Fas ligand in ocular tissue. *Cornea* 2002; 21(2 Suppl 1):S30-S32
- 10 Miyazaki D, Inoue Y, Yao YF, et al. T-Cell-Mediated immune responses in alloepithelial rejection after murine kerato-epithelioplasty.

- Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999;40(11):2590-2597
- 11 史伟云,谢立信. CD4 和 CD8 基因敲除鼠行穿透性角膜移植术后免疫排斥特征的研究. 中华眼科杂志 2005;41(4):350-354
- 12 Niederkorn JY. Immunology and immunomodulation of corneal transplantation. *Int Rev Immunol* 2002;21(2-3):173-196
- 13 Sano Y, Osawa H, Sotozono C, et al. Cytokine expression during orthotopic corneal allograft rejection in mice. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1998;39(10):1953-1957
- 14 King WJ, Comer RM, Hudde T, et al. Cytokine and chemokine expression kinetics after corneal transplantation. *Transplantation* 2000;70(8):1225-1233
- 15 洪朝阳,徐海铭.大剂量甲基强的松龙冲击治疗角膜移植术后排斥反应的临床疗效观察. 临床眼科杂志 2007;15(2):147-148
- 16 洪朝阳,王斌.冲击量甲基强的松龙治疗重症角膜移植排斥反应 6 例. 眼科新进展 2006;26(7):546-547
- 17 Tabbara KF. Pharmacologic strategies in the prevention and treatment of corneal transplant rejection. *Int Ophthalmol* 2007;28(3):223-232
- 18 邓宏伟,陈建苏,李辰,等.雷公藤多甙和 FK506 滴眼防治大鼠角膜移植免疫排斥反应的比较. 国际眼科杂志 2009;9(3):440-443
- 19 史伟云,刘廷,谢立信,等. FK506 缓释系统前房植入抑制兔高危角膜移植术后的免疫排斥反应. 中华眼科杂志 2006;42(4):299-304
- 20 朱健,谢祥茂,陈俊勇.他克莫司产生菌的选育和生产工艺研究. 中国医药工业杂志 2005;36(4):207-210
- 21 Mourad G, Vela C, Ribstein J, et al. Long-term improvement in renal function after cyclosporine reduction in renal transplant recipients with histologically proven chronic cyclosporine nephropathy. *Transplantation* 1998;65(5):661-667
- 22 Gronyo JM. Progress with cyclosporine-sparing regimens. *Transplant Proc* 1999;31(8A):11S-16S
- 23 赵新荣,杨炜.雷帕霉素滴眼液对碱烧伤角膜新生血管的影响. 眼外伤职业眼病杂志 2009;31(6):401-404
- 24 Groth CG, Backman L, Morales JM, et al. Sirolimus (rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. *Transplantation* 1999;67(7):1036-1042
- 25 Kahan BD, Kramer WG. Median effect analysis of efficacy versus adverse effects of immunosuppressants. *Clin Pharmacol Ther* 2001;70(1):74-81