

细胞与角膜移植免疫耐受

刁玉梅, 李 兵

作者单位:(121001)中国辽宁省锦州市,辽宁医学院附属第一医院眼科

作者简介:刁玉梅,辽宁医学院研究生学院眼科学专业在读硕士研究生,研究方向:眼表疾病、角膜病。

通讯作者:李兵,教授,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:眼表疾病、角膜病. jzslibingv@yahoo.com.cn

收稿日期:2010-06-29 修回日期:2010-08-16

刁玉梅,李兵. 细胞与角膜移植免疫耐受. 国际眼科杂志 2010;10(9):1716-1718

Cells and immunotolerance of keratoplasty

Yu-Mei Diao, Bing Li

Department of Ophthalmology, Affiliated First Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China

Correspondence to: Bing Li. Department of Ophthalmology, Affiliated First Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, Liaoning Province, China. jzslibingv@yahoo.com.cn

Received:2010-06-29 Accepted:2010-08-16

Abstract

• Keratoplasty rejection is the main failure factor of keratoplasty. Immunotolerance is antigen-specific immune non-response. Inducing receptors of the immunotolerance against the graft was the fundamental method to completely overcome the transplant rejection. Keratoplasty rejection is a complex process. All kinds of immunocytes play a critical role in suppressing rejection and inducing immunotolerance.

• **KEYWORDS:** keratoplasty; immunotolerance; rejection; cell

Diao YM, Li B. Cells and immunotolerance of keratoplasty. *Int J Ophthalmol (Guoji Yanke Zazhi)* 2010;10(9):1716-1718

摘要

角膜移植术后免疫排斥反应是角膜移植失败的主要原因。免疫耐受是指抗原特异性的免疫无应答。诱导受体产生针对移植物的免疫耐受是彻底克服移植排斥反应的根本方法。角膜移植排斥反应是一个复杂且有多因素参与的过程。多种免疫细胞在抑制角膜移植术后排斥反应、诱导免疫耐受中,发挥着关键作用。因此,我们就近几年通过细胞诱导角膜移植免疫耐受的机制作一综述。

关键词:角膜移植;免疫耐受;排斥反应;细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-5123.2010.09.025

0 引言

角膜移植术后免疫排斥反应是一个多种免疫细胞和免疫分子参与的复杂的免疫应答。虽然存在免疫赦免和前房相关性免疫偏离,但排斥反应仍是角膜移植失败的主要限制因素^[1]。诱导角膜移植免疫耐受是克服角膜移植排斥反应的关键。而参与角膜移植排斥反应的多种免疫细胞,在阻断免疫应答、诱导免疫耐受中,发挥着重要作用。

1 树突状细胞

树突状细胞(dendritic cell, DC)是由美国 Rockefeller 大学 Steinman 等^[2]于 1973 年在分离小鼠脾细胞分离中被发现,因其表面具有许多树枝状的突起而得名。DC 是目前所知的机体内功能最强的、专职的、唯一诱导初始 T 细胞活化的抗原递呈细胞(antigen processing cell, APC),是适应性 T 细胞免疫应答的始动者。DC 是一组异质的细胞群体,其异质性主要表现在不同的细胞起源、不同的成熟状态和不同的功能等方面。未成熟 DC 低表达 MHC I/II 类分子,缺乏免疫应答所必需的 CD₄₀, B7 (CD₈₀, CD₈₆) 等共刺激分子和黏附分子,缺少激活 T 细胞免疫应答所必需的第二信号^[3],从源头抑制免疫应答。过去认为 DC 主要分布在角膜周边上皮及浅基质层,少量分布于偏中央区,中央区缺乏,Hamrah 等^[4]发现成人角膜的中央上皮及其浅基质层存在未成熟 DC 和前体 DC,骨髓源的未成熟的存在是 DC 形成前房相关性免疫偏离(anterior chamber-associated immune deviation, ACAID)的一个重要原因。Raimondi 等^[5]和 Nouri-Shirazi 等^[6]认为,未成熟的自体 DC 或供体 DC 作为诱导移植免疫耐受的启动子,通过致敏受体的 T 细胞诱导免疫耐受,从而延长移植物的存活时间。未成熟 DC 诱导免疫耐受的机制表现为:(1)诱导 T 细胞无能:未成熟 DC 表面表达低水平的 MHC 分子,几乎不表达 CD₄₀, CD₈₀, CD₈₆ 等激活 T 细胞所必须的辅助分子,因此不能活化 T 细胞导致 T 细胞无能或低反应;(2)促进 Th1/Th2 偏离:Khanna 等^[7]将肝脏 DC 皮下注射到同种异体鼠内,可诱导 Th2 细胞增生,促进 Th2 细胞因子分泌,诱导免疫耐受;(3)诱导调节性 T 细胞的产生:Min 等^[8]发现未成熟 DC 能够刺激初始 T 细胞转化成调节性 T 细胞,反过来,调节性 T 细胞也能抑制 DC 的成熟。未成熟 DC 与调节性 T 细胞如此反复相互激发形成反馈环路,阻碍移植物排斥;(4)促进 T 细胞凋亡:最近研究发现未成熟 DC 细胞具有一种 DEC-205 受体,可以和许多抗原结合,其结合效率比其他同源受体高 30 ~ 100 倍。在稳态时,将 anti-DEC 配体

选择性靶向结合到 DC 细胞上, T 细胞首先大量增殖, 然后大部分激活 T 细胞在 1wk 内凋亡, 实验小鼠获得免疫耐受^[9]; (5) 高表达 IDO 诱导免疫耐受: 吡啶胺 2, 3 二氧化酶(indoleamine 2, 3-dioxygenase, IDO) 是将色氨酸转化为犬尿氨酸的限速酶, 色氨酸是 T 细胞、尤其是抗原活化的 T 细胞增殖所必需的氨基酸, IDO 的活性表达导致 T 细胞微环境中色氨酸的耗竭使细胞处于一种“色氨酸饥渴”状态引起 T 细胞的增殖抑制。研究证实, 正常角膜有低水平 IDOmRNA 和蛋白表达, IDO 在角膜的表达明显提高角膜植片的存活时间^[10]; (6) 细胞因子模式: IL-10, TGF- β 等细胞因子通过上调免疫抑制性受体 ILT3, ILT4 是 DC 耐受的分子机制^[11]。研究证实, 未成熟树突状细胞分泌 IL-10 在免疫耐受中起重要作用^[12]; (7) NF- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 是一种细胞内普遍存在的转录因子, 具有启动基因转录的功能。实验证实, 自身免疫性疾病、变态反应、心肌再灌注损伤、机体对移植物的排异反应以及某些神经性疾病中均可发现 NF- κ B 呈过度激活状态^[13]。赵巍等^[14]证实, NF- κ B 参与了异体角膜移植排斥反应的调控, 在免疫排斥反应的发生过程中发挥重要作用。Yoshimura 等^[15]研究证明对于阻断树突状细胞的抗原递呈以及抑制 T 细胞依赖的免疫应答, NF- κ B 是一个有效的靶基因。

2 调节性 T 细胞

调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg) 是一类表面高表达 IL-2 受体 α 链(CD₂₅)、胞质中表达 Foxp3 转录因子的 CD₄⁺ T 细胞, 在免疫应答的负调节及自身免疫耐受中发挥重要作用。眼源性抗原信号通过眼局部的抗原递呈细胞经血到达脾脏后, 选择性地激活 Treg, 抑制抗原特异性的迟发型超敏反应(delayed type hypersensitivity, DTH) 和补体结合性抗体的产生发展, 保留抗原特异致敏的细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL) 反应, 这种现象叫前房相关性免疫偏离(anterior chamber-associated immune deviation, ACAID)^[16]。ACAID 是全身免疫系统对前房内抗原产生的一种特殊的免疫偏离现象, 造成全身性的免疫炎症反应 DTH 被抑制, 保护眼球免遭炎症破坏^[17]。诱导 ACAID 必须具备以下条件: 调节性 T 淋巴细胞, 抗原注射后保持眼球完整性不少于 3d、脾脏和正常的眼部微环境。无论是可溶性抗原卵蛋白(OVA) 还是同种异基因抗原(脾细胞悬液), 都必须通过调节性 T 淋巴细胞的免疫调节作用才能诱导产生 ACAID^[18]。最近研究证实, 在鼠角膜移植模型中, Treg 在区域引流淋巴结中而不是在外周免疫反应中发挥抑制功能^[19]。

3 自然杀伤 T 细胞

自然杀伤 T 细胞(natural killer T, NKT) 是一种新型淋巴细胞, 与 T 细胞和 NK 细胞不同, 被称为第 4 类淋巴细胞, 其同时表达 T 细胞表面受体和 NK 细胞表面标志, 发育受 CD₁ 分子限制。CD1d 反应性 NKT 表达 V α 14J α 281TCR, 而敲除 J α 281 的小鼠, 不能产生抗原特异性 Treg 和 ACAID。NKT 来源的 IL-10 对抗原特异性 Treg 细胞的产生和 ACAID 的诱导是非常重要的^[20]。Sonoda

等^[21]将正常小鼠和去除 NK T 细胞的小鼠分别作为受体进行同种异体移植, 在移植 12wk 后, 正常小鼠和 NKT 细胞敲除鼠的植片存活率分别为 50% 和 0, NKT 细胞对于植片的存活是必要的。刘颖等^[22]在大鼠角膜移植手术结束时结膜下仅注射一次细胞, 就能使植片存活时间延长, 直到术后第 26d 植片才发生排斥, 存活时间远较对照组长。Ly49 C/I 为表达于 NK, NKT, γ δ T 等细胞的一种抑制性受体, 研究证实, Ly49 C/I⁺ CD₄⁺ NKT 细胞上调 IL-10 的表达, 降低 IFN- γ , 在眼的免疫耐受中起重要作用^[23]。

4 γ δ T 细胞

根据表达 TCR 的类型, T 细胞分为 α β T 细胞和 γ δ T 细胞。执行固有免疫功能的 γ δ T 细胞作为黏膜淋巴组织的重要成员, 参与构成了机体的第一道防线。活化的 γ δ T 分泌 IL-2, IL-4, IFN- γ , TNF- α , TGF- β , IL-10 等多种细胞因子, 参与免疫调节。研究发现, γ δ T 细胞与 ACAID 密切相关, 在携带抗 γ δ 抗体鼠的前房注入可溶性抗原或同种异体抗原(脾细胞)后不能诱导产生 ACAID。在基因敲除鼠的实验中, 功能性的 γ δ T 细胞的缺少不能形成 ACAID。角膜移植前用 GL3Ab 阻滞 γ δ T 细胞的实验, 确定了 γ δ T 在 ACAID 形成中的重要性^[24]。预先用抗鼠 δ 链单克隆抗体的 C57BL/6 小鼠或是 γ δ T 细胞受体缺陷的小鼠 $\delta(-/-)$ 不能诱导 ACAID^[25]。因此 γ δ T 诱导 ACAID, 诱导角膜移植免疫耐受是必需的。

目前, 角膜病在致盲的各种原因中占第 2 位, 而角膜移植是治疗顽固性角膜病的最终手段。但角膜移植排斥反应一直都是角膜移植失败的主要原因。诱导免疫耐受是彻底克服角膜排斥反应的理想方法。多种参与免疫活动的免疫细胞如树突状细胞、调节性 T 细胞、自然杀伤 T 细胞、 γ δ T 细胞等在抑制角膜移植术后排斥反应, 诱导免疫耐受中的作用已得到实验证实。这为我们彻底克服角膜移植排斥反应, 最终治疗角膜病, 提供了新的思路。

参考文献

- 1 Pleyer U, Schlickeiser S. The taming of the shrew? The immunology of corneal transplantation. *Acta Ophthalmol* 2009;87(5):488-497
- 2 Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in perithelial lymphoid organs of mice. I. Morphology. quantitation. tissue distribution. *J Exp Med* 1973;137(5):1142-1162
- 3 Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392(6637):245-252
- 4 Hamrah P, Dana MR. Corneal antigen-presenting cells. *Chem Immunol Allergy* 2007;92:58-70
- 5 Raimondi G, Thomson AW. Dendritic cells, tolerance and therapy of organ allograft rejection. *Contrib Nephrol* 2005;146:105-120
- 6 Nouri-Shirazi M, Thomson AW. Dendritic cells as promoters of transplant tolerance. *Expert Opinon Biol Ther* 2006;6(4):325-339
- 7 Khanna A, Morelli AE. Effects of liver-derived dendritic cell progenitors on Th1 and Th2-like cytokine responses *in vitro* and *in vivo*. *J Immunol* 2000;164(3):1346-1354
- 8 Min WP, Zhou D, Ichim TE, et al. Inhibitory feedback loop between tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells in transplant tolerance. *J Immunol* 2003;170(3):1304-1312
- 9 Hawiger D, Inaba K. Dendritic cells induce peripheral T cell unresponsiveness under steady conditions *in vivo*. *J Exp Med* 2001;194(6):769-779

10 Beutelspacher SC, Pillai R, Watson Mp. Function of indoleamine 2, 3-dioxygenase in corneal allograft rejection and prolongation of allograft survival by over-expression. *Eur J Immunol* 2006;36(3):690-700
11 Manavalan JS, Rossi PC, Vlad G, et al. High expression of ILT3 and ILT4 is a general feature of tolerogenic dendritic cells. *Transpl Immunol* 2003;11(3-4):245-258
12 Lgyarto BZ, Jenison MC. Langerhans cells suppress contact hypersensitivity responses via cognate CD4 interaction and langerhans cell-derived IL-10. *J Immunol* 2009;183(8):5085-5093
13 Yamamoto Y, Gaynor RB. Therapeutic potential of inhibition of the NF-kappaB pathway in the treatment of inflammation and cancer. *J Clin Invest* 2001;107(2):135-142
14 赵巍,胡燕华,徐惠民,等.核因子- κ B在大鼠角膜移植排斥反应中的表达.眼外伤职业眼病杂志 2005;27(6):401-403
15 Yoshimura S, Bondeson J, Brennan FM, et al. Antigen presentation by murine dendritic cells is nuclear factor-kappa B dependent both *in vitro* and *in vivo*. *Scand J Immunol* 2003;58(2):165-172
16 Streilein JW, Masli S, Takeuchi M, et al. The eye's view of antigen presentation. *Hum Immunol* 2002;63(6):435-443
17 王大江,黄一飞. γ 8T细胞与角膜移植免疫耐受.眼科新进展 2006;27(3):216-219
18 Ohta K, Wiggert B, Yamagami S, et al. Analysis of immunomodulatory activities of aqueous humor from eyes of mice with experimental autoim-

mune uveitis. *J Immunol* 2000;164(3):1185-1192
19 Chauhan SK, Salan DR, Lee HK. Levels of Foxp3 in regulatory T cells reflect their functional status in transplantation. *J Immunol* 2009;182(1):148-153
20 Sonoda KH, Faunce DE, Taniguchi M, et al. NK T cell-derived IL-10 is essential for the differentiation of antigen-specific T regulatory cells in systemic tolerance. *J Immunol* 2001;166(1):42-50
21 Sonoda KH, Taniguchi M, Stein-Streilein J. Long-term survival of corneal allografts is dependent on intact CD1d-reactive NKT cells. *J Immunol* 2002;168(4):2028-2034
22 刘颖,接英,潘志强,等.自然杀伤细胞结膜下注射防治大鼠角膜移植免疫排斥反应的初步研究.眼科 2007;16(3):175-178
23 Watte CM, Nakamura T, Lau CH, et al. Ly49 C/I-dependent NKT cell-derived IL-10 is required for corneal graft survival and peripheral tolerance. *J Leukoc Biol* 2008;83(4):928-935
24 Skelsey ME, Mellon J, Niederkorn JY. Gamma delta T cells are needed for ocular immune privilege and corneal graft survival. *J Immunol* 2001;166(7):4327-4333
25 Xu Y, Kapp JA. gammadelta T cells are critical for the induction of anterior chamber-associated immune deviation. *Immunology* 2001;104:142-148
26 Klebes, Coster DJ, Williams KA. Rejection and acceptance of corneal allografts. *Curr Opin Organ Transplant* 2009;14(1):4-9

热烈祝贺国家医学教育发展中心眼科专业学术委员会正式成立 暨首届眼科学术研讨会成功召开

本刊讯 为了推动我国眼科事业快速的发展,促进眼科界学术交流,国家医学教育发展中心于2010-08-13/15在陕西西安成功举办了“国家医学教育发展中心眼科专业学术委员会成立暨首届眼科学术研讨会”。出席本次盛会的主要领导和专家有:国家医学教育发展中心常务主任马美军,中华医学会继续教育部主任马志泰,陕西省卫生厅党组副书记、副厅长兼省药监局局长李荣杰,西安碑林药业股份有限公司董事长黄小华,中华中医药学会眼科分会主任委员、中国中医科学院眼科医院原院长高健生教授,北京市眼科学会常委、北京同仁医院眼科原副主任宋维贤教授,中华中医药学会副主任委员、北京中医药大学东方医院眼科主任韦企平教授,《国际眼科杂志》主编、《中华眼科杂志》副主编、第四军医大学全军眼科研究所惠延年教授及世界眼科大会(WOC)分会主席、陕西省眼科学会常委、《国际眼科杂志》社长/总编辑胡秀文教授。在大会开幕式上,本次大会协办单位西安碑林药业股份有限公司黄小华董事长致欢迎词,中华医学会继续教育部主任马志泰主任代表中华医学会致贺词,陕西省卫生厅党组副书记、省卫生厅副厅长兼省药监局局长李荣杰代表陕西省卫生厅致贺词,国家医学教育发展中心常务主任马美军宣布了国家医学教育发展中心第一届眼科专业学术委员会名单,意味着一个新的国家级眼科专业学术机构正式成立。该委员会的宗旨是:适应和深化改革,促进眼科医学发展;特点是:将我国中医眼科界与西医眼科界有机结合,融为一体,相互交流,相互促进,共同努力推动我国眼科事业的改革和发展。开幕式后举办了首届眼科学术研讨会,我国著名眼科专家高健生教授、韦企平教授、宋维贤教授、金明教授、钟勇教授等做了专题演讲,和血明目片临床治疗论证课题组报告了和血明目片临床研究最新进展,惠延年教授多次提问并作精彩点评,来自全国各地近200名眼科工作者参加了研讨会,这是我国眼科领域的一次盛会,并取得圆满成功。

IJO 编辑部
2010-08-24