

[8] 潘莉莉,佟威威,等.中老年人骨密度、骨代谢相关因素探讨[J].中华老年学杂志,2006,27(8):641-642.

[9] 邱平,李育民,高瑾.运动对中老年人骨代谢生化指标的影响[J].中国康复医学杂志,2005,20(9):819-820.

[10] 肖恩,孟萍.骨质疏松骨代谢生化指标的研究进展[J].中国骨质疏松杂志,2008,13(3):178.

[11] 黄晓丽,郑玉霞,曹立,等.老年性骨质疏松患者骨代谢指标的观察[J].现代预防医学,2007,34(20):3801.

[12] 安新玲,韩金祥,王世立.骨形态发生蛋白的研究进展[J].山东大学学报:医学版,2004,42(2):244-248.

(收稿日期:2010-03-08)

树突状细胞免疫耐受性在肾移植中的应用

张应添 综述,林 涛 审校(重庆医科大学附属儿童医院泌尿外科/儿童发育疾病研究省部共建教育部重点实验室 400014)

【关键词】 免疫耐受; 树突状细胞; 肾移植
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2011.04.049 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2011)04-0466-03

1980 年,Steinman 等^[1]成功分离了一类形态、功能均极为特殊的免疫细胞——树突状细胞(dendritic cells,DC),它是目前已知体内功能最强的抗原递呈细胞,它可以引起强烈的免疫应答,另一方面,DC 也可以诱导免疫耐受^[2-5],此种 DC 被称为耐受性 DC(Tol-DC)。耐受性 DC 指表型未成熟,能抑制 T 细胞反应的 DC。目前研究认为,未成熟 DC(immature DC,im-DC)是诱导免疫耐受,特别是外周性免疫耐受的原因。于是,国内外研究学者就其对器官移植免疫耐受方面做了许多研究。

1 DC 在移植免疫中的作用过程及其价值

成熟 DC 表达高水平的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex-2,MHC-2)、MHC1 类分子、协同刺激分子(CD80、CD86)、黏附分子(CD40、CD44)等,并能分泌白细胞介素-12(interleukin-12,IL-12)、白细胞介素-1(interleukin-1,IL-1)、白细胞介素-6(interleukin-6,IL-6)、白细胞介素-8(interleukin-8,IL-8)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor-α,TNF-α)、干扰素-α(interferon-α,IFN-α)等细胞因子,尤其是在 CD40 的作用下,分泌辅助型 T 细胞 1(heep T cell,Th1)细胞因子,可有效地将抗原递呈给初始 T 细胞并使之激活,触发细胞介导的免疫应答。

生理条件下,DC 弥散分布于外周组织器官间质内,处于静息状态,是一种非成熟的 DC,非成熟状态的 DC 低水平表达 MHC 分子,几乎不表达 CD40、细胞间黏附分子-1、淋巴细胞功能相关抗原-3 等协同刺激分子和黏附分子,不能使初始 T 细胞活化、增殖发生免疫应答,从而诱导抗原特异性免疫耐受^[6]。imDC 可以诱导免疫耐受的发现极大地推动了 DC 在移植免疫中的研究。

DC 在移植免疫反应中的作用可分为 4 个阶段^[7], (1)摄取抗原; (2)从未成熟转变为成熟 DC; (3)DC 由非淋巴器官迁移到淋巴器官; (4)与 T、B 淋巴细胞的相互作用和 DC 的凋亡。imDC 激活 T 细胞的能力很弱,却具有强大的摄取抗原能力,其作用方式包括噬菌作用、胞饮作用和受体介导的特异性内吞作用^[8]。imDC 一旦被抗原激活,就完成向成熟 DC 的转变,就开始由非淋巴器官向淋巴器官迁移,这在免疫反应中具有重要的意义。

2 DC 的成熟与迁移

一般情况下,DC 处于未成熟状态。在人类,DC 主要分两类:髓系 DC(myeloid DC,MDC)和淋巴系 DC(lymphoid DC,LDC),但目前对 DC 成熟过程的研究主要集中在 MDC。MDC

的发育过程有未成熟和成熟两个阶段。未成熟 MDC 广泛分布于外周非淋巴组织,范围与巨噬细胞相仿。人体表皮细胞的基层层约有 1×10^9 个 DC,均为 imDC,能在第一时间捕捉侵入的抗原性物质,触发机体免疫应答。当受到抗原刺激时,imDC 能迅速分化为成熟 DC。成熟 DC 分布于二级淋巴组织,如淋巴结、脾脏、扁桃腺等^[9]。总结起来,DC 的成熟包括几个过程,首先 DC 前体细胞通过血液进入非淋巴组织并发育为 imDC,然后 imDC 接受抗原或细胞因子等刺激后再分化为成熟 DC,并分布于二级淋巴组织^[10-11]。DC 在一般情况下的免疫流程:外周 imDC 摄取抗原,完成向成熟 DC 的转变;并由非淋巴器官迁移到淋巴器官;在淋巴器官内与 T、B 淋巴细胞发生相互作用,触发免疫反应。研究表明,DC 主要通过直接和间接两条途径引发受体对供体器官的排斥反应^[12]。所谓直接途径是指:供体脏器内原有的 DC 表面表达供体 MHC-Ⅱ类分子及抗原多肽,当移植脏器血液循环恢复后,DC 由移植脏器内迁移至受体的二级淋巴组织,例如:淋巴结、脾、扁桃体等,并在那里与受体特异性 T 细胞相互作用,递呈供体抗原多肽,激活受者 T 细胞,诱导免疫应答,触发排斥反应;所谓间接途径是指:受者 imDC 由于受到移植肾内的各种炎性因子和趋化因子的影响,从外周组织或外周血中迁移至异体移植肾内,通过吞噬凋亡的供体细胞获得并表达供者的抗原多肽,同时由未成熟状态转化为成熟的 DC,其细胞表面表达大量的 MHC-Ⅱ分子,共刺激分子(主要为 B7-2)和细胞黏附分子(ICAM-1)。完成活化的 DC 再次迁移至受者的二级淋巴组织,并激活 T 细胞,触发排斥反应。

3 DC 的成熟与迁移的影响因素

DC 成熟受多种因素影响,IL-10、TGF-β 等可抑制其成熟。imDC 可分泌 IL-10,而 IL-10 可诱导无能 T 细胞产生、抑制 T 细胞增殖,可诱导 Th2 型细胞反应和通过调节性 T 细胞(regulatory T cell,Treg)下调 DC 表面共刺激分子表达、抑制 IL-12 合成。微生物细胞成分如细菌脂多糖、集落刺激因子(如 GM-CSF)和细胞因子(如 IL-4、IL-12)等能促使 DC 成熟。成熟 DC 是早期免疫应答强有力的抗原呈递细胞,它活化初始 T 细胞,触发免疫应答。

目前已可知影响 DC 迁移的因素有以下几类: (1)趋化因子(chemokines)家族,它们是机体内一群能使细胞发生趋化运动的细胞因子,通过与表达于细胞表面的趋化因子受体结合而发挥其生物学作用。其中,C 族趋化因子(MIP、RANTES 等)

对 imDC 的影响较大,而 CXC 族趋化因子(SDF21a、MIP238)主要对成熟 DC 发挥作用。(2)霉酚酸酯(MMF),研究表明 MMF 可以上调 DC 表面的 CCR7 表达,降低 CCR5 表达^[13],从而促进 DC 由炎症部位向次级淋巴器官迁移;同时,MMF 还可以在功能上保持 DC 的未成熟状态,从而使大量 imDC 迁移至淋巴结,有利于诱导免疫耐受的发生。(3)前列腺素 E2^[14]和白三烯 C4^[15]可通过上调 DC 表面的 CCR7 受体而促进 DC 向淋巴结迁移。(4)其他化合物,如黏附分子 P-选择素,细胞间黏附分子-1(ICAM-1)^[16]等可从外周血募集 imDC 到移植肾,而其单抗可以阻止该过程,从而发挥对肾脏的保护作用。(5)物理因素:如缺氧^[17]、紫外线照射^[18-19]等均可减弱 DC 的迁移能力。

4 DC 诱导免疫耐受的作用机制

DC 的作用机制包括以下几点:

4.1 诱导 T 细胞的无能、克隆清除。imDC 具有抗原摄取、处理功能,可以引起 T 细胞无能或者免疫忽略^[20],但无法激活 T 细胞。另外,imDC 还可以发育成 DC2,后者可诱导 Th2 反应^[21]。

4.2 产生 Th1/Th2 偏移。Th1 细胞主要分泌 IFN- γ 、IL-12 等。Th2 细胞主要分泌 IL-4 和 IL-10。Th 细胞的分化受 DC 的控制,当受到外界因素的刺激,如脂多糖刺激的情况下,能诱导 T 细胞向 Th1 产生偏移,产生细胞因子 IFN- γ 、IL-12,使 T 细胞成为效应性 T 细胞。相反,DC 诱导 T 细胞向 Th2 产生偏移,产生 IL-4、IL-5 和 IL-10 等,可以使 T 细胞朝调节性 T 细胞的方向发育^[22-23]。

4.3 诱导调节性 T 细胞(Treg)的产生^[24-25]。调节性 T 细胞可以分为三大类,即 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞,CD8⁺调节性 T 细胞(TH3 细胞)和 TR1 调节性 T 细胞。Treg 通过直接与细胞接触的方式来抑制效应性 T 细胞,从而诱导免疫耐受。imDC 主要是诱导 TR1 调节性 T 细胞的产生与扩增,同时也诱导 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的产生。研究表明,成熟 DC 同样可以诱导调节性 T 细胞的产生^[26],且 DC 与 Treg 的作用较为复杂^[27]。一方面,imDC 可以直接诱导 Treg 的形成,或通过摄取蛋白递呈给 T 细胞前体而诱导 Treg 的形成;另一方面,Treg 也可反馈调节 DC 的成熟状态^[28]。

5 DC 诱导免疫耐受的技术

目前正在进行的实验研究中,利用 imDC 诱导移植免疫耐受的具体方法有:(1)用免疫抑制分子基因(细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 融合蛋白、IL-10、TGF- β 基因)转染的 DC 使其成为缺乏共刺激分子的 imDC,从而无法完成 DC 和 T 细胞间共刺激信号的转导,进而阻断或干扰 DC 的抗原递呈。(2)供体 imDC 结合免疫抑制药物。研究表明,使用 CD40 L 单克隆抗体结合供体 imDC,可以延长小鼠心脏移植术后存活时间,但 CD40 L 单克隆抗体单独使用效果甚微。在皮肤移植中,imDC 结合抗 CD40 L 或抗 IL-12、IL-13 单克隆抗体,均能延长移植物存活时间^[29]。(3)抑制 DC 成熟的药物,如 TGF- β 、IL-10、前列腺素 E2、可的松、环孢霉素等,均抑制脂多糖活化的 CD83 表达和 IL-12、TNF- α 、IL-6 的产生,进而抑制 T 细胞的抗感染反应,抑制 DC 成熟活化,对移植物形成耐受^[30]。

6 DC 与肾移植

众所周知,肝脏移植的免疫耐受具有其独特性,在很多动物试验中,肝移植可以对与肝脏联合移植的同一供体的其他器

官起保护作用,移植肝常常能越过主要组织相容性的障碍在没有免疫治疗的情况下最终被接受,但这种情况可因在肝移植前去除供肝内的白细胞而消失。额外的给予供体肝脏来源的白细胞可以恢复其免疫耐受,表明供体白细胞有诱导肝移植免疫耐受的作用,而这种供肝来源的白细胞正是 imDC。由于 imDC 独特的调节免疫细胞的生物学特性,使其越来越为移植领域所重视,同种异体肾移植中,imDC 通过阻断抗原呈递、使 T 细胞不能活化达到诱导免疫耐受,避免或减轻排斥反应,从而延长移植存活的目的。Lopez-Nebolina 等^[31]用供体耐受性树突状细胞通过门静脉注入受体,受体对移植肾不发生排斥。邓素雄等^[32]采取白细胞介素-10 修饰的树突状细胞由静脉注入受体体内,肝肾联合移植可以显著延长大鼠存活。这些都是利用 imDC 可以诱导移植免疫耐受的作用,使肾移植存活时间得到显著延长。但是供体来源的 imDC 受刺激因子(如脂多糖、肿瘤坏死因子等)作用,不可避免会发育成熟,同时作为一种异物,在宿主体内可产生同种异体反应而被清除,使已经产生的免疫耐受作用消失。因而如何维持输入受体的 imDC 的未成熟状态及将 imDC 的耐受原性放大到最大程度,已成为未来研究的主要方向之一^[33]。Ouyang 等^[34]转染 IKK2 的 DC(Adv-IKK2dn-DC)注入大鼠受体体内,可以诱导免疫耐受,并可在一定程度上阻止未成熟树突状细胞的成熟。

7 结 语

同种免疫排斥仍是目前移植领域中亟待解决的问题。DC 是重要的免疫调节细胞,它在免疫耐受的诱导和维持上起着重要作用。它可以在不降低机体免疫力的情况下,通过使机体产生特异性耐受来达到治疗目的。随着对其诱导免疫耐受机制研究的不断深入,寻找一种理想的耐受性 DC,使其能够迁移到淋巴器官,精准地抑制抗原特异性 T 细胞,对于移植免疫及自身免疫性疾病的防治具有重大意义。

总之,imDC 在诱导肾移植免疫耐受方面起着非常重要作用,虽然目前人们对 DC 的研究尚处于初步阶段,但是相信通过大量的动物及临床实验研究,随着对 imDC 及其诱导耐受机制研究的不断深入,将为其在肾移植免疫耐受的临床应用提供更坚实的基础。

参考文献

- [1] Steinman RM, Witmer MD, Nussenzweig MC, et al. Dendritic cells of the mouse: identification and characterization [J]. J Invest Dermatol, 1980, 75(1): 14-16.
- [2] Heath WR, Carbone FR. Cross-presentation, dendritic cells, tolerance and immunity [J]. Annu Rev Immunol, 2001, 19: 47-64.
- [3] Xiao BG, Duan RS, Link H, et al. Induction of peripheral tolerance to experimental autoimmune myasthenia gravis by acetylcholine receptor-pulsed dendritic cells [J]. Cell Immunol, 2003, 223(1): 63-69.
- [4] Adikari SB, Lefvert AK, Pirskanen R, et al. Dendritic cells activate autologous T cells and induce IL-4 and IL-10 production in myasthenia gravis [J]. J Neuroimmunol, 2004, 156(1-2): 163-170.
- [5] Jegu G, Palucka AK, Blanck JP, et al. Plasmacytoid dendritic cells induce plasma cell differentiation through type

- I interferon and interleukin-6 [J]. *Immunity*, 2003, 19: 225-234.
- [6] Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells[J]. *Annu Rev Immunol*, 2003, 21(5): 685-711.
 - [7] 陆京伯, 石汉平. 树突状细胞在免疫应答中的作用及其调控[J]. *医学综述*, 2001, 7(2): 69-71.
 - [8] Sallusto F, Cella M, Danieli C, et al. Dendritic cells use macropinocytosis and the mannose receptor to concentrate macromolecules in the major histocompatibility complex class II compartment; downregulation by cytokines and bacterial products[J]. *J Exp Med*, 1995, 182(2): 389-400.
 - [9] Angus WT. A critical look at the antigen-presenting capacity and tolerogenic potential of dendritic cells [J]. *J Graft*, 2000, 3: 1-9.
 - [10] 郑峻松, 吴军, 肖光夏. 树突状细胞与移植免疫耐受的研究[J]. *中华烧伤杂志*, 2003, 12(9): 382-384
 - [11] Chan A, Baird M, Mercer AA, et al. Maturation and function of human dendritic cells are inhibited by of virus-encoded interleukin-10[J]. *J Gen Virol*, 2006, 87(11): 3177-3181.
 - [12] Raimondi G, Thomson AW. Dendritic Cells, tolerance and therapy of organ allograft rejection[J]. *Contrib Nephrol*, 2005, 146: 105-120.
 - [13] Lagaraine C, Hoarau C, Chabot V, et al. Mycophenolic acid-treated human dendritic cells have a mature migratory phenotype and inhibit allogeneic responses via direct and indirect pathways[J]. *Int Immunol*, 2005, 17(4): 351-363.
 - [14] 朱旬, 甄林林, 郑伟, 等. 前列腺素 E₂ 对小鼠树突状细胞迁移能力及抗乳腺癌免疫作用的影响[J]. *中华普通外科杂志*, 2006, 21(5): 367-369.
 - [15] 朱旬, 甄林林, 郑伟, 等. 白三烯 B₄ 增强小鼠骨髓来源树突状细胞迁移及肿瘤免疫治疗作用[J]. *中华实验外科杂志*, 2006, 23(3): 325-327.
 - [16] 周同, 孙桂芝, 张玉梅, 等. 抗新附治疗对大鼠急性肾损伤中树突状细胞迁移聚集的影响[J]. *中国微循环*, 2003, 7(5): 273-276.
 - [17] Qu X, Yang MX, Kong BH, et al. Hypoxia inhibits the migratory capacity of human monocyte-derived dendritic cell[J]. *Immunol Cell Biol*, 2005, 83(6): 668-673.
 - [18] Richters CD, Reits EA, Van Peit AM, et al. Effect of low dose UVB irradiation on the migratory properties and functional capacities of human skin dendritic cells[J]. *Clin Exp Immunol*, 1996, 104(1): 191-197.
 - [19] Schwarz A, Maeda A, Schwarz T. Alteration of the migratory behavior of UV-induced regulatory T cells by tissue-specific dendritic cells[J]. *J Immunol*, 2007, 178(2): 877-886.
 - [20] Veeraswamy RK, Cella M, Colonna M, et al. Dendritic cells process and present antigens across a range of maturation states[J]. *J Immunol*, 2003, 170(11): 5367-5372.
 - [21] Liu YJ. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate and adaptive immunity [J]. *J Immunol*, 2001, 166(3): 259-262.
 - [22] Moser M, Murphy KM. Dendritic cell regulation of Th1-Th2 development[J]. *Nat Immunol*, 2000, 1(3): 199-205.
 - [23] Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease [J]. *Altern Med Rev*, 2003, 8(3): 223-246.
 - [24] Dhodapkar MV, Steinman RM. Antigen-bearing immature dendritic cells induce peptide-specific CD8⁺ regulatory T cells in vivo in humans[J]. *Blood*, 2002, 100(1): 174-177.
 - [25] Yamazaki S, Iyoda T, Tarbell K, et al. Direct expansion of functional CD25⁺ CD4⁺ regulatory T cells by antigen-processing dendritic cells[J]. *J Exp Med*, 2003, 198: 235-247.
 - [26] Menges M, Rossner S, Voigtlander C, et al. Repetitive injections of dendritic cells matured with tumor necrosis factor alpha induce antigen-specific protection of mice from autoimmunity[J]. *J Exp Med*, 2002, 195(1): 15-21.
 - [27] Enk AH. DCs and cytokines cooperate for the induction of tregs[J]. *Ernst Schering Res Found Workshop*, 2006, 56: 97-106.
 - [28] Honey K, Cobbold SP, Waldman H. CD40 ligand blockade induces CD4⁺ T cell tolerance and linked suppression[J]. *J Immunol*, 1999, 163: 4805-4810.
 - [29] Lu L, Li W, Fu F, et al. Blockade of the CD40 ligand pathway potentiates the capacity of donor-derived dendritic cell progenitors to induce long-term cardiac allograft survival[J]. *Transplantation*, 1997, 64(12): 1808-1815.
 - [30] Hen ML, Wang FH, Lee PK, et al. Interleukin-10 induced T cell unresponsiveness can be reversed by dendritic cell stimulation[J]. *Immunol Lett*, 2001, 75(2): 91-96.
 - [31] Lopez-Neblina F, Toledo-Pereyra LH, Suzuki S. Ultrarapid orthotopic technique for renal transplantation in the rat[J]. *Microsurgery*, 1994, 15(4): 274-278.
 - [32] Deng SX, Li JL, Ma Y. In vivo migration and immunoprotection of interleukin-10-modified dendritic cells in rats after heterogenic simultaneous liver-kidney transplantation[J]. *J Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research*, 2008, 12(40): 7947-7950.
 - [33] Mark AW, Pradip S, Roland T, et al. Immunoregulation of dendritic cells[J]. *J Clin Med Res*, 2005, 3(3): 166-175.
 - [34] Ouyang J, Fan C, Wen D, et al. Donor antigen-loaded IKK2dn gene-modified dendritic cells prolong allograft survival[J]. *Scand J Immunol*, 2010, 71(5): 336-344.