

综述

早产儿异基因细胞移植免疫耐受的研究进展

吕灿 综述 屈艺 母得志 审校

(四川大学华西第二医院儿科 / 出生缺陷与相关妇儿疾病教育部重点实验室, 四川 成都 610041)

[摘要] 早产儿是一类特殊的群体,与早产相关的严重神经、呼吸、消化系统疾病的致残/致死率居高不下。异基因细胞移植可能是上述疾病治疗和预防的有效手段。目前,异基因细胞移植治疗缺氧缺血性脑病、支气管肺发育不良以及坏死性小肠结肠炎的动物实验已成功开展。而异基因细胞移植治疗早产儿疾病所面临的困难主要是移植物抗宿主反应,而要解决这一问题,需要实现免疫耐受的成功诱导。本文就近年来早产儿异基因细胞移植免疫耐受的研究进展进行综述。
[中国当代儿科杂志, 2018, 20(4): 338-340]

[关键词] 异基因细胞移植; 移植物抗宿主反应; 免疫耐受; 早产儿

Research advances in immune tolerance of allogeneic cell transplantation in preterm infants

LYU Can, QU Yi, MU De-Zhi. Department of Pediatrics, West China Second University Hospital/Key Laboratory of Birth Defects and Related Diseases of Women and Children (Sichuan University), Ministry of Education, Chengdu 610041, China (Email: quyi712002@163.com)

Abstract: Preterm infants are a special group, and related severe neurological, respiratory, and digestive disorders have high disability/fatality rates. Allogeneic cell transplantation may be an effective method for the prevention and treatment of these diseases. At present, animal studies have been conducted for allogeneic cell transplantation in the treatment of hypoxic-ischemic encephalopathy, bronchopulmonary dysplasia, and necrotizing enterocolitis. The main difficulty of this technique is graft-versus-host reaction (GVHR), and successful induction of immune tolerance needs to be achieved in order to solve this problem. This article reviews the research advances in immune tolerance of allogeneic cell transplantation in preterm infants.
[Chin J Contemp Pediatr, 2018, 20(4): 338-340]

Key words: Allogeneic cell transplantation; Graft-versus-host reaction; Immune tolerance; Preterm infant

近年来,早产儿出生率不断增加,截止到2016年我国早产儿已增至180万。随着医疗技术的进步和NICU的发展,早产儿的存活率得到很大提高,但与早产儿相关的严重的神经、呼吸、消化系统疾病的致残/致死率仍居高不下,给家庭和社会带来沉重的负担。异基因细胞移植可能是上述问题治疗的有效手段。目前,异基因细胞移植治疗缺氧缺血性脑病、支气管肺发育不良以及坏死性小肠结肠炎的动物实验已成功开展^[1]。但异基因细胞移植后的长期疗效仍在进一步观察中,

而移植后的移植物抗宿主反应(graft-versus-host reaction, GVHR)成为决定移植是否成功的关键。

解决GVHR这一问题,需要实现免疫耐受的成功诱导,这一过程与许多因素有关,其中包括免疫原性强的个体不易产生免疫耐受。而早产儿因免疫功能不成熟,较容易诱导产生对外源抗原的耐受^[2]。因此异基因细胞移植为早产儿相关疾病的治疗提供了新的思路和不错的前景,本文就近年来早产儿异基因细胞移植免疫耐受的研究进展进行综述。

[收稿日期] 2017-12-8; **[接受日期]** 2018-2-10

[基金项目] 国家重点研发计划项目(2017YFA0104204)。

[作者简介] 吕灿,女,硕士研究生,住院医师。

1 免疫耐受与移植免疫耐受

免疫耐受是指免疫活性细胞接触某一抗原时所表现的特异性无应答状态,有别于免疫抑制疗法和遗传免疫缺陷所造成的非特异性免疫抑制或无反应,它可以大大减少免疫抑制剂的用量,降低机会性感染及药物中毒的发生率。

根据免疫耐受形成的不同,可分为天然与获得性免疫耐受,人工诱导建立的是获得性免疫耐受。而诱导的条件主要与免疫和抑制因素有关,包括年龄、免疫原性、免疫抑制剂等免疫因素和移植途径、耐受原的种类、剂量等抑制因素。

移植免疫耐受是一种人工诱导的获得性免疫耐受,并不需要受者免疫系统完全耐受供者抗原,虽然有时体外分析证明T细胞对供者具有反应性,但只要在没有免疫抑制剂处理的情况下,移植器官未被排斥,则受者就达到了移植免疫耐受的状态^[3]。

理论上,免疫耐受可以通过清除受者体内中枢和外周T细胞,或者受者体内其它淋巴细胞和单核细胞来实现,其中调节性T细胞(regulate T cells, Treg)是目前的研究热点^[4]。Treg细胞是一类控制自身免疫反应的T细胞亚群,可以通过分泌相关的细胞因子如TGF- β 、IL-10抑制免疫活性细胞增殖^[5-6]。研究显示,在体外混合淋巴细胞培养中Treg细胞的存在可以诱导建立免疫耐受^[7]。

2 早产儿的免疫功能

早产儿是指胎龄不足37周的活产新生儿,与足月儿相比,包括免疫系统在内的身体各组织器官都尚未发育成熟。

人类免疫系统的成熟是发展变化的^[8]。首先,在适应性免疫方面,胎儿经胎盘获得的IgG主要发生在胎儿晚期^[9],而保护性抗体IgA则主要是出生后通过母乳获得,自身抗体反应在儿童早期完全发育成熟;在胎儿足月前,T细胞中Treg和自然杀伤细胞比例较高,而出生后辅助性细胞逐渐增多。而对于先天性免疫功能,促炎因子(IL-1 β 、IL-6、TNF- α)随着胎龄的增大逐渐增多,出生前迅速增至高峰,而后快速下降至出生时水平;抗病毒因子(IFN- α)在胎儿期稳定于低水平,出生

后逐渐增多,最后趋于稳定;而抗炎因子(IL-10)在出生前稳定于高水平,出生后反而有所下降。

外周血白细胞中淋巴细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞、单核细胞等成分在早产儿、足月儿以及年长儿的差异有统计学意义,各成分的含量以足月儿最高,其次是早产儿,年长儿最低^[8]。

因此,早产儿较足月儿的免疫功能低下。

3 免疫耐受的检测

目前尚缺乏有效的方法鉴定机体是否已建立移植免疫耐受,而有效的免疫耐受指标可反映免疫耐受成功与否。

3.1 淋巴细胞亚群

Treg细胞(CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺cell)是外周免疫耐受的主要监测指标,它不仅能够阻止CD4⁺T细胞的活化和增殖,还能抑制CD8⁺T细胞的分化以及B细胞活化^[10-12]。相关研究^[13]证实,Treg细胞可以早期预测急性GVHR,而且动态监测至关重要。

Th9细胞在免疫耐受调控中也发挥着重要作用,主要通过分泌IL-9来发挥免疫调节作用^[14]。有研究表明,异基因造血干细胞移植后发生急性GVHR患者的Th9细胞和IL-9水平显著降低^[15]。

3.2 树突状细胞

树突状细胞(dendritic cells, DC)是体内抗原递呈功能最强,也是唯一能激活初始型T细胞的专职抗原提呈细胞。DC不仅参与了机体的免疫调节,而且是免疫调节网络的核心细胞^[16]。诱导T细胞免疫攻击还是免疫耐受主要取决于DC成熟与否。成熟的DC是高效的职业抗原提呈细胞,可以启动并放大免疫反应;而未成熟DC缺乏共刺激分子的表达,MHC-II分子的表达也很弱,因此不能激活抗原特异性T细胞,从而诱导T细胞免疫耐受^[17]。另外,IL-10和TGF- β 能协同下调DC表面的MHC-II类分子、协同刺激分子以及粘附分子表达,故两者能加强DC诱导的免疫耐受^[18-20]。

3.3 细胞因子

细胞因子是一类由免疫细胞和某些非免疫细胞分泌的具有广泛生物学活性的小分子蛋白质。由活化淋巴细胞产生的一类细胞因子称为淋巴因

子,主要作用于相应的靶细胞,在实现免疫效应和免疫调节功能中发挥重要作用。

Treg细胞的生成和在胸腺中的发育以及对免疫稳态的维护,很大程度上取决于IL-2^[21]。IL-2不仅能够增加Treg细胞数量,还能通过增加IL-10的分泌抑制T淋巴细胞活性^[22]。IL-2和IL-2受体缺陷的小鼠表现为淋巴结、脾脏等外周淋巴组织器官增大,抑制T淋巴细胞活化的免疫细胞死亡,以及自身免疫功能紊乱^[23]。

TGF- β 由体内多种细胞合成和分泌,在免疫调节中,它不仅能够控制免疫活性细胞的增殖、分化、存活和凋亡,对于Th1细胞的分化和同种异体淋巴细胞增殖的抑制也很重要^[24]。

IFN- γ 只由活化的T细胞和NK细胞产生,它可以通过激活抗原提呈细胞,上调转录因子CCAAT增强子结合蛋白 β (C/EBP β)而促进Th1细胞的分化,因此血清中IFN- γ 上升提示免疫排斥反应的可能^[15]。

4 免疫耐受诱导在早产儿中的应用

免疫耐受诱导是一个多机制的参与过程,近年认为要想获得深度持久的移植耐受,并且降低免疫抑制剂的使用,可以通过多种耐受机制进行调节,目前倾向于由单一途径诱导耐受转向多途径复合型耐受的诱导,主要包括以下几个途径。

4.1 异基因混合嵌合体

1984年Ilstad等^[25]对接受致死剂量照射的新生小鼠予以同基因和异基因骨髓细胞的混合输注,从而形成一种混合的异基因骨髓嵌合体,结果小鼠对异基因骨髓供体的皮肤移植植物不发生排斥。而现阶段认为,这种高比例供体骨髓细胞植入所形成的宏嵌合体导致的耐受是一种中枢耐受,由于供体特异的同种反应T细胞在胸腺中已通过阴性选择而排除,因而这种耐受是终身稳定的^[26-27]。但需指出的是,这种方法主要适用于新生鼠或幼年鼠,在正常的成年动物要形成高比例异基因骨髓细胞嵌入,通常需要予以照射等损伤性强烈的去髓性预处理,而这在临床器官移植中难以接受。此外,有研究^[28]显示,通过宫内途径进行异基因干细胞移植,出生后可诱导长期嵌合,这对于早产儿免疫耐受的诱导是一有效策略。

4.2 转基因间充质干细胞促进免疫功能重建、抑制GVHR

间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)是一个异质细胞群,具有多向分化的潜力,在受体内不受免疫排斥,还能调节免疫功能^[29]。故在Li等^[30]研究中,从小鼠骨髓中分离MSCs,并转入能促进T细胞发育和功能成熟的IL-7基因,获得能高效表达IL-7的MSCs-IL-7细胞,它与供体造血干细胞共移植后,不但加速了异基因骨髓移植小鼠免疫功能重建,而且明显抑制GVHR的发生。由于早产儿免疫功能不全,转基因MSCs在促进免疫功能重建方面的成功率更高,故对于诱导早产儿免疫耐受有很大的应用前景。

4.3 诱导T细胞凋亡促进免疫耐受

活化诱导的细胞死亡(activation-induced cell death, AICD)是T细胞功能调节的重要机制。在T细胞活化早期,AICD主要由Fas-FasL系统介导,阻断CD28/B7信号可以增强T细胞介导的Fas-FasL系统凋亡^[31]。因此,在移植早期,特异性地促进同种反应T细胞死亡,可以有效地抑制移植排斥反应发生,而且凋亡的T细胞可以诱导调节细胞产生,进一步促进移植免疫耐受的维持^[32]。而早产儿的T细胞易于凋亡,且出生胎龄越小,T细胞活化后越容易凋亡,因而可通过诱导T细胞凋亡诱导早产儿免疫耐受^[33]。

近年来,多途径“复合型”耐受诱导逐渐成为移植免疫耐受研究的主流,因为它可以明显降低长期服用免疫抑制剂所带来的不良反应。但应用于临床仍有许多有待解决的问题。

5 总结

诱导移植免疫耐受是移植领域的热点,早产儿免疫功能更为幼稚,主导免疫排斥的T细胞亚群功能不成熟,具备诱导移植免疫耐受的免疫学基础。但以下问题还需要进一步探讨:一是如何选择安全、可靠、合理的方法诱导稳定而持久的特异性免疫耐受;二是如何选择简捷方便的方法确定免疫耐受的成败及其达到的耐受性水平;三是如何维持免疫耐受。移植的免疫排斥反应是医学界面临的重大挑战,需要不断地探索和寻找最优的解决办法。

[参 考 文 献]

- [1] Chang YS, Ahn SY, Sung S, et al. Stem cell therapy for neonatal disorders: prospects and challenges[J]. *Yonsei Med J*, 2017, 58(2): 266-271.
- [2] Sharma AA, Jen R, Butler A, et al. The developing human preterm neonatal immune system: a case for more research in this area[J]. *Clin Immunol*, 2012, 145(1): 61-68.
- [3] 赵勇. 移植免疫耐受[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005: 191-200.
- [4] Yang S, Fujikado N, Kolodin D, et al. Immune tolerance. Regulatory T cells generated early in life play a distinct role in maintaining self-tolerance[J]. *Science*, 2015, 348(6234): 589-594.
- [5] Zeng H, Zhang R, Jin B, et al. Type 1 regulatory T cells: a new mechanism of peripheral immune tolerance[J]. *Cell Mol Immunol*, 2015, 12(5): 566-571.
- [6] Hippen KI, Riley JL, June CH, et al. Clinical perspective for regulatory T cells in transplantation tolerance[J]. *Semin Immunol*, 2011, 23(6): 462-468.
- [7] Sakaguchi S, Yamaguchi T, Nomura T, et al. Regulatory T cells and immune tolerance[J]. *Cell*, 2008, 133(5): 775-787.
- [8] Sharma AA, Jen R, Butler A, et al. The developing human preterm neonatal immune system: a case for more research in this area[J]. *Clin Immunol*, 2012, 145(1): 61-68.
- [9] Palmeira P, Quinello C, Silveira-Lessa AL, et al. IgG placental transfer in healthy and pathological pregnancies[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 985646.
- [10] Ohl K, Tenbrock K. Regulatory T-cells in systemic lupus erythematosus. IL-2 is decisive for loss of tolerance[J]. *Z Rheumatol*, 2016, 75(3): 253-264.
- [11] He X, Koenen HJ, Slaats JH, et al. Stabilizing human regulatory T cells for tolerance inducing immunotherapy[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(9): 735-751.
- [12] Le Poole IC, Mehrotra S. Replenishing regulatory T cells to halt depigmentation in vitiligo[J]. *J Invest Dermatol Symp Proc*, 2017, 18(2): 38.
- [13] Pang N, Duan X, Jiang M, et al. Reconstitution and clinical significance of T cell subsets in the early stage after related HLA-mismatched peripheral blood hematopoietic SCT without T-cell depletion in vitro[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(8): 8892-8901.
- [14] Mangus CW, Massey PR, Fowler DH, et al. Rapamycin resistant murine Th9 cells have a stable in vivo phenotype and inhibit graft-versus-host reactivity[J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e72305.
- [15] Pang N, Xu J, Qu J, et al. Peripheral blood Th9 cells reconstitution and its relationship with acute graft-versus-host disease after matched-sibling peripheral blood hematopoietic stem cell transplantation[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(8): 3623-3632.
- [16] Audiger C, Rahman MJ, Yun TJ, et al. The importance of dendritic cells in maintaining immune tolerance[J]. *J Immunol*, 2017, 198(6): 2223-2231.
- [17] Idoyaga J, Fiorese C, Zbytnik L, et al. Specialized role of migratory dendritic cells in peripheral tolerance induction[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(2): 844-854.
- [18] Horton C, Shanmugarajah K, Fairchild PJ. Harnessing the properties of dendritic cells in the pursuit of immunological tolerance[J]. *Biomed J*, 2017, 40(2): 80-93.
- [19] Chen L, Zheng L, He W, et al. Cotransfection with IL-10 and TGF- β 1 into immature dendritic cells enhances immune tolerance in a rat liver transplantation model[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2014, 306(7): G575.
- [20] Zhou J, He W, Luo G, et al. Mixed lymphocyte reaction induced by multiple alloantigens and the role for IL-10 in proliferation inhibition[J]. *Burns Trauma*, 2014, 2(1): 24-28.
- [21] Chinen T, Kannan AK, Levine AG, et al. An essential role for the IL-2 receptor in Treg cell function[J]. *Nature Immunol*, 2016, 17(11): 1322-1333.
- [22] Wolf D, Barreras H, Bader CS, et al. Marked in vivo donor Treg expansion via IL-2 and TL-Ig stimulation ameliorates GVHD but preserves GVL in recipients post-HSCT[J]. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2017, 23(5): 757-766.
- [23] Brandenburg S, Takahashi T, de la Rosa M, et al. IL-2 induces in vivo suppression by CD4(+)CD25(+)Foxp3(+) regulatory T cells[J]. *Eur J Immunol*, 2008, 38(6): 1643-1653.
- [24] Qiu M, Chen Y, Chen L, et al. Transforming growth factor β 1 and Fas ligand synergistically enhance immune tolerance in dendritic cells in liver transplantation[J]. *J Surg Res*, 2017, 218(9): 180-193.
- [25] Iltstad ST, Sachs DH. Reconstitution with syngeneic plus allogeneic or xenogeneic bone marrow leads to specific acceptance of allografts or xenografts[J]. *Nature*, 1984, 307(5947): 168-170.
- [26] Alpdogan O, van den Brink MR. Immune tolerance and transplantation[J]. *Semin Oncol*, 2012, 39(6): 629-642.
- [27] Im KI, Park MJ, Kim N, et al. Induction of mixed chimerism using combinatory cell-based immune modulation with mesenchymal stem cells and regulatory T cells for solid-organ transplant tolerance[J]. *Stem Cell Dev*, 2014, 23(19): 2364-2376.
- [28] Mattar CN, Biswas A, Choolani M, et al. The case for intrauterine stem cell transplantation[J]. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*, 2012, 26(5): 683-695.
- [29] Nemeth K. Mesenchymal stem cell therapy for immune-modulation: the donor, the recipient, and the drugs in-between[J]. *Exp Dermatol*, 2014, 23(9): 625-628.
- [30] Li A, Jiang J, Zhang Q, et al. Cytokines transduced bone marrow stromal cell lines promote immunohematopoietic reconstitution in mice after allogeneic bone marrow transplantation[J]. *Immunol Lett*, 2005, 98(2): 216-224.
- [31] Cencioni MT, Santini S, Ruocco G, et al. Fas-ligand regulates differential activation-induced cell death of human T-helper 1 and 17 cells in healthy donors and multiple sclerosis patients[J]. *Cell Death Dis*, 2015, 6: e1785.
- [32] Collette Y, Benziane A, Razanajaoua D, et al. Distinct regulation of T-cell death by CD28 depending on both its aggregation and T-cell receptor triggering: a role for Fas-FasL[J]. *Blood*, 2013, 92(4): 1350-1363.
- [33] 张秋业, 单延春, 董增义, 等. 早产儿 T 淋巴细胞凋亡特性及影响因素的初步观察[J]. *中华围产医学杂志*, 2002, 5(4): 276-279.