

# 未成熟树突状细胞诱导皮肤移植免疫耐受的研究进展

王永权 彭毅志

树突状细胞(dendritic cell, DC)是一类重要的专职抗原呈递细胞,虽然在体内的数量较少,但是其强大的抗原呈递和处理功能在机体的免疫反应中起重要的作用。DC的发育分化过程伴随着其由未成熟的前体细胞向成熟细胞的转变,未成熟的DC(imature dendritic cell, imDC)与成熟DC(mature dendritic cell, mDC)在表型特征以及生物学功能上都有区别,而imDC最大的特点就是在体外可以诱导T淋巴细胞特异性低应答。临床上同种异体皮肤移植是目前大面积深度烧伤患者早期创面覆盖最直接、最有效的治疗方法。但是由于皮肤的强烈抗原特性,使外源皮肤在移植后3周左右发生不可逆的排斥反应,极大程度抑制了自体微粒皮混合大张异体皮的移植效果。利用imDC的特殊作用,可以在皮肤移植前后给受者体内输入用基因工程技术制备的imDC,以减轻皮肤移植后的免疫排斥反应、延长异体皮的成活时间,从而提高大面积深度烧伤患者的手术治疗效果。

## 一、imDC的免疫特性

1. DC的分化与发育。DC主要分血源性和髓源性,尚有少数来源于间质。细胞因子是调节DC发育过程的重要因素<sup>[1]</sup>。参与DC个体发育起始阶段的细胞因子很多,包括促进DC分化的粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)、白细胞介素(IL)3、肿瘤坏死因子(TNF) $\alpha$ 以及辅助DC成熟的IL-1、IL-6、IL-12等。DC的成熟也受自身表达的黏附分子以及DC所处的局部环境的影响<sup>[1]</sup>。DC的分化发育过程伴随着其表面标志的变化以及DC的迁移过程。随着DC的不断发育和分化,其功能也发生了变化,表现为捕获和处理抗原的能力逐渐降低,但呈递抗原的能力则明显增强<sup>[2]</sup>。DC前体细胞经血液循环进入非淋巴组织,分化为imDC,定居于上皮组织、胃肠道、呼吸道、生殖和泌尿系统以及肝、心、肾等实质性脏器,在局部微环境中,DC在炎性细胞

因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1等)和抗原物质以及内毒素/脂多糖(LPS)等的刺激下逐渐成熟,并通过输出淋巴管和血液循环进入引流淋巴结。mDC具有以下特征:可以激活T淋巴细胞发生免疫反应;表达重要的共刺激分子,如CD80、CD86、CD83、CD54和CD40等;电镜下观察可见细胞有DC的形态学特征(树枝样突起)<sup>[3]</sup>。

2. imDC的表型特征。DC的发育成熟过程伴随着其表面标志的变化。典型的mDC通常表达大量的主要组织相容性复合物II(MHC-II)类分子,以及与刺激T淋巴细胞反应相关的各种共刺激分子。研究表明,mDC表面表达CD1a、CD54、CD40、CD83、CD80和CD86;而imDC前体的表面标志特征与mDC却是相反的,即:MHC-II类分子表达较少,CD80和CD86等共刺激分子阴性或者弱阳性<sup>[1,4]</sup>。因此imDC摄取和处理抗原的能力较强,而抗原呈递能力较弱。

## 二、imDC诱导的T淋巴细胞免疫耐受

1. T淋巴细胞与DC的关系。DC作为重要的胸腺间质细胞,对T淋巴细胞在胸腺中的选择过程起着重要的作用。DC表面高表达MHC-II类分子,双阳性胸腺细胞经T淋巴细胞抗原识别受体(TCR)重排后识别DC表面自身MHC分子,通过阳性选择而成活;而在阴性选择中,识别DC表面的自身肽——MHC的T淋巴细胞,通过凋亡机制而被淘汰。DC还可在外周对T淋巴细胞的分化发挥重要作用。mDC分泌的IL-12,可诱导辅助性T淋巴细胞(Th)1的分化;在缺乏CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞时,DC可诱导CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞发育为CD8<sup>+</sup>细胞毒性T淋巴细胞(CTL)<sup>[5]</sup>。生理状态下,仍然有少量T淋巴细胞逃避了胸腺的阳性和阴性选择被释放到外周循环。因此,为防止有害的自体免疫反应,机体内存在一定的调控机制,而imDC在这一机制中起着重要的作用。骨髓源的imDC一般位于病原体侵入机体的门户,如皮肤黏膜组织等,在稳定的生理环境下,这种imDC搜集和清除各种自体抗原和凋亡细胞。没有炎症反应发生时,它们以未成熟状态存在于淋巴结内,大量的未致敏T淋巴细胞亦同时存在,使结

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室

通信(讯)作者:彭毅志, Email: yizhipen@mail.tmmu.com.cn, 电话:023-68754175

合了自体抗原的 imDC 能够诱导 T 淋巴细胞发生自体耐受<sup>[6]</sup>。不难看出,在这里,骨髓源的 imDC 扮演了免疫系统“警察”的角色<sup>[7]</sup>。血液细胞来源的 imDC 位于外周循环和淋巴组织中,同骨髓源的 imDC 一样,在稳定的生理状态下搜集各种自体抗原和凋亡细胞,并参与诱导外周循环的自体反应 T 淋巴细胞的凋亡<sup>[8]</sup>。

2. imDC 诱导 T 淋巴细胞耐受的机制。(1) mDC 表面高表达多种共刺激分子(尤其是 CD80 和 CD86),可通过与 T 淋巴细胞表面相应的配体结合,提供 T 淋巴细胞激活的协同刺激信号。正是由于 imDC 表面缺乏这些共刺激分子的表达,因而可以诱导 T 淋巴细胞发生免疫耐受<sup>[3]</sup>。实验证明,外周血来源的 imDC 可以诱导人抗原特异性 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的免疫无能<sup>[9]</sup>。将破伤风毒素特异性的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞与自体 imDC 共同孵育,结果在理想的抗原刺激下 T 淋巴细胞并未增生<sup>[7]</sup>。从硬皮病患者体内提取的拓扑异构酶 I 特异性的自反应 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞克隆,以及从抗磷脂综合征患者体内提取的  $\beta_2$  糖蛋白 I 特异性 T 淋巴细胞克隆,在与相应的自体 imDC 混合培养后,均可诱导 T 淋巴细胞的不反应状态,其结果是不能诱导 T 淋巴细胞的增生或不能有效协助 B 淋巴细胞产生自身抗体<sup>[9]</sup>。imDC 介导的 T 淋巴细胞的无应答状态与缺乏 IL-2 产物以及 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的活性状态等相关。CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞与自体 imDC 混合后不能上调 CD40 配体的表达,也不能通过 TCR 识别抗原肽分子<sup>[10]</sup>。用 imDC 处理的 Th1 克隆在丝裂原的刺激下产生示踪量的干扰素(IFN) $\gamma$ ,但是不产生 IL-2,而用 imDC 处理的 Th2 克隆则可以产生 IL-10,像调控型 T 淋巴细胞那样,这些产生 IL-10 的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞可以抑制自身抗体的产生。(2) 虽然已经知道 T 淋巴细胞的无应答是在 imDC 表面的 MHC 分子呈递的抗原肽与 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞表面 TCR 结合过程中诱导的,但是其具体细节仍不清楚。T 淋巴细胞的激活需要 2 个重要的“信号”: TCR 与 MHC 分子呈递的抗原肽结合;抗原呈递细胞上的共刺激分子结合 T 淋巴细胞上的相应配体<sup>[11]</sup>。这就是著名的“双信号理论”。根据该理论,imDC 诱导的 T 淋巴细胞耐受可以简单地解释为其表面缺乏共刺激分子,因此不能满足双信号的条件所致<sup>[12]</sup>。但仅仅是双信号的缺乏诱导了 T 淋巴细胞的特异性不应答吗? 目前还有观点认为,imDC 介导的 T 淋巴细胞无应答的机制并非只是缺乏表面共刺激分子,其他一些因素也起着重要的作用。在 T 淋巴细胞不应答过程中有一个重要的环节,就是 T 淋巴细胞表面 CD40 配

体的上调受到抑制<sup>[9]</sup>。免疫球蛋白样抑制型受体免疫球蛋白样转录物(ILT)3 和 ILT4,作为 imDC 表面的一种免疫受体酪氨酸抑制基序<sup>[13,14]</sup>,通过恢复酪氨酸磷酸(酯)酶(SHP-1)的活性和干扰 CD40-CD40 配体的结合,进而抑制 T 淋巴细胞的激活<sup>[15]</sup>。另外,CD8<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup> 可以上调 imDC 表面的 ILT3 和 ILT4 表达,从而间接调节 imDC 对 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的免疫无应答<sup>[16]</sup>。imDC 与未致敏 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞共同培养还可以诱导 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的分化,其特点也是抑制增生和减弱溶细胞作用,并且产生大量 IL-10 及少量 IFN- $\gamma$ 。这种 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞与上述的 CD8<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup> T 淋巴细胞不同,它从未致敏 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞中分化,只需 imDC 的单个刺激。而 CD8<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup> T 淋巴细胞发挥其耐受作用时,则需要 imDC 的反复刺激转化为终末 CTL 细胞;CD8<sup>+</sup>、CD28<sup>+</sup> T 淋巴细胞通过上调 mDC 表面的 ILT3 和 ILT4 表达发挥作用,而这种 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞是通过产生大量的 IL-10 诱导增生抑制和免疫耐受的<sup>[17]</sup>。

### 三、imDC 诱导免疫耐受在皮肤移植中的应用

DC 在表皮中被称为朗格汉斯细胞(LC),是免疫反应介导起始的至关重要的一类抗原呈递细胞。在同种异体皮肤移植中,供体皮肤中的 LC 迁移到受体的引流淋巴结中,在对供体皮肤的排斥反应中起到十分重要的作用<sup>[18,19]</sup>。临床上同种异体皮肤移植是大面积烧伤患者早期创面覆盖的良好方法,但是皮肤移植较其他的器官移植具有更强烈的急性排斥反应,而且免疫抑制疗法对于大面积深度烧伤患者有极大的副作用。根据 imDC 诱导 T 淋巴细胞发生免疫耐受的原理,将 DC 介导的排斥反应特异性阻断或者减弱,是目前同种异体皮肤移植的研究热点。Toby 等<sup>[20]</sup>将人的全厚皮片移植到免疫缺陷的小鼠身上,然后在小鼠腹膜内注射供者同源的单核细胞诱导免疫反应的发生,并且注射供者 imDC,观察排斥反应的情况。结果注射 imDC 的小鼠发生的免疫排斥反应轻微,移植的皮肤表面红润,真皮-表皮界限明显,表皮下有小血管形成,并且可以成活 100 d 以上;而对照组的小鼠术后 7 d 开始出现排斥反应,21 d 达高峰,表现为移植植物坏死,真皮下大量淋巴细胞浸润、增生。有研究结果表明,利用基因转染的方法,将人 IL-10 基因用腺病毒作为载体转入骨髓源的 DC,这些转基因 DC 在混合淋巴细胞反应中比一般的 DC 甚至 imDC 更加不敏感,而且其表型特征与 imDC 很相像<sup>[20]</sup>。IL-10 抑制 DC 的功能很有可能是通过抑制 DC 产生有生物活性的



