

· 实验研究 ·

白细胞介素-22 在大鼠角膜移植术后角膜中的动态表达及其与排斥反应的关系

李萍萍 吴京 马明 于健 王博

【摘要】背景 角膜移植术后的免疫排斥反应仍然是导致角膜移植失败的主要原因，其免疫机制非常复杂。研究证实，辅助性 T 细胞 17(Th17) 及其主要效应分子之一白细胞介素-22(IL-22) 对心脏、肝脏及骨髓等器官移植方面产生影响，但其在角膜移植排斥反应中的作用尚不确定。**目的** 探讨 IL-22 在大鼠角膜移植术后免疫排斥反应中的作用。**方法** SPF 级雌性 SD 大鼠 24 只，SPF 级雌性 Wistar 大鼠 76 只，体质量 180~220 g。按照随机数字表法将受体大鼠随机分为自体角膜移植组、同种异体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组，另取 4 只健康 Wistar 大鼠作为正常对照组。24 只 SD 大鼠作为供体，48 只 Wistar 大鼠作为受体，行同种异体角膜移植术；24 只 Wistar 大鼠行自体角膜移植术。同种异体角膜移植抗排斥组大鼠术后用妥布霉素地塞米松滴眼液点眼 2 周。术后每日裂隙灯显微镜下观察大鼠角膜植片情况，参照 Larkin 等的排斥反应评分标准判断角膜植片的存活情况，采用 Kaplan-Meier 生存分析法比较各组角膜植片的累积生存率。分别于术后第 5 天、第 14 天任意取 3 只大鼠角膜行组织病理学检查，并于相应时间点任意取各组 5 只大鼠角膜植片行实时荧光定量 PCR 检测，计算并比较各组大鼠角膜组织中 IL-22 mRNA 和配体激活转录因子芳香烃受体(AhR)mRNA 的相对表达量。**结果** 同种异体角膜移植组角膜植片的平均存活时间为 10 d，同种异体角膜移植抗排斥组为 17 d，差异有统计学意义($\chi^2 = 16.442, P = 0.000$)。术后不同时间点正常对照组、自体角膜移植组、同种异体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组大鼠角膜中 IL-22 mRNA 的相对表达量总体比较差异均有统计学意义(术后 5 d: $F = 2.44, P = 0.00$ ；术后 14 d: $F = 267.92, P = 0.00$)，其中术后 5 d 和 14 d 同种异体角膜移植组角膜中 IL-22 mRNA 的相对表达量均明显高于同种异体角膜移植抗排斥组(术后 5 d: 9.70 ± 0.35 比 0.46 ± 0.21 ；术后 14 d: 23.12 ± 1.89 比 3.14 ± 0.94)，差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。术后不同时间点 4 个组大鼠角膜中 AhR mRNA 的相对表达量明显不同，总体比较差异均有统计学意义(术后 5 d: $F = 395.73, P = 0.00$ ；术后 14 d: $F = 942.37, P = 0.00$)，其中术后 5 d 和 14 d 同种异体角膜移植组角膜中 AhR mRNA 的相对表达量均明显高于同种异体角膜移植抗排斥组(术后 5 d: 2.52 ± 0.32 比 1.89 ± 0.10 ；术后 14 d: 7.20 ± 0.25 比 2.60 ± 0.17)，差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** IL-22 在发生角膜移植免疫排斥反应的大鼠角膜中呈高表达，妥布霉素地塞米松滴眼液点眼可通过下调 IL-22 的表达而抑制免疫排斥反应，AhR 对 IL-22 在角膜植片中的表达发挥调控作用。

【关键词】 角膜移植；植片排斥/免疫；辅助 T 淋巴细胞/免疫；白细胞介素-22；芳香烃受体；妥布霉素地塞米松滴眼液；生物模型；Wistar 大鼠

Dynamic expression of interleukin-22 in grafts after allograft corneal transplantation and its relationship with graft rejection in rats Li Pingping, Wu Jing, Ma Ming, Yu Jian, Wang Bo. Department of Ophthalmology, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China

Corresponding author: Wu Jing, Email: wujing@fimmu.com

[Abstract] **Background** The rejection following keratoplasty still is a leading cause of corneal transplantation failure. Studies showed that the interleukin-22 (IL-22), one of the effector molecules of T helper cell 17 (Th17) participated on the rejection after heart, liver and bone marrow transplantation. However, the effect of IL-

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.10.004

基金项目：国家自然科学基金项目（81170887）；广东省自然科学基金项目（S2013010016640, S2012010008946, 9151051501000047）

作者单位：510515 广州，南方医科大学南方医院眼科（李萍萍、马明、于健、王博），惠侨科（吴京）

通信作者：吴京，Email: wujing@fimmu.com

22 on corneal graft rejection is not well understood. **Objective** This study was to investigate the expression of IL-22 mRNA in the corneal grafts and the role of IL-22 in the immune rejection after corneal transplantation in rats.

Methods Seventy-two Wistar rats were randomized into autologous keratoplasty group, allograft keratoplasty group and anti-rejection group, and other 4 normal Wistar rats served as normal control group. Autologous keratoplasty was operated on the Wistar rats of the autologous keratoplasty group, and allograft keratoplasty were carried out with the 24 SD rats as donors and 48 Wistar rats as recipients. Tobramycin and dexamethasone eye drops were topically administrated after autologous keratoplasty for 2 weeks in the anti-rejection group. The experimental eyes were examined by slit lamp microscope after surgery and graft survival was evaluated based on the rejection scoring criteria of Larkin. Intergroup accumulated survival rates of grafts were compared using Kaplan-Meier analysis. Histopathological examination of grafts was carried out in 5 and 14 days after operation respectively, and the related expression levels of IL-22 mRNA and aryl hydrocarbon receptor (AhR) mRNA were carried out by real-time fluorescence quantitative PCR. The feeding and use of the experimental animals followed the Guangdong provincial regulations on the management of experimental animals. The experimental design was approved by the ethics committee of Southern Medical University. **Results** The median survival time of grafts in the allograft keratoplasty group was 10 days, and that in the anti-rejection group was 17 days, showing a significant survival extension in the anti-rejection group ($\chi^2 = 16.442, P = 0.000$). Significant differences were found among the 4 groups in the related expression levels of IL-22 mRNA in both 5 days and 14 days after surgery (postoperative 5 days: $F = 2.44, P = 0.00$; postoperative 14 days: $F = 267.92, P = 0.00$), and the related expression levels of IL-22 mRNA were remarkably higher in the allograft keratoplasty group than those in the anti-rejection group at different time points (postoperative 5 days: 9.70 ± 0.35 vs. 0.46 ± 0.21 ; postoperative 14 days: 23.12 ± 1.89 vs. 3.14 ± 0.94) (both at $P < 0.05$). The related expression levels of AhR mRNA in the grafts were considerably different among the 4 groups (postoperative 5 days: $F = 395.73, P = 0.00$; postoperative 14 days: $F = 942.37, P = 0.00$), and the expression levels were significantly elevated in the allograft keratoplasty group compared with the anti-rejection group at various time points (postoperative 5 days: 2.52 ± 0.32 vs. 1.89 ± 0.10 ; postoperative 14 days: 7.20 ± 0.25 vs. 2.60 ± 0.17) (both at $P < 0.05$).

Conclusions The expression level of IL-22 RNA up-regulates in the grafts with immuno-rejection. Topical administration of tobramycin and dexamethasone eye drops inhibits the rejection after keratoplasty. AhR plays a regulatory role to the expression of IL-22 in rats after keratoplasty.

[Key words] Corneal transplantation; Graft rejection/immunology; T-lymphocytes, helper-inducer/immunology; Interleukin-22; Receptors, aryl hydrocarbon; Eye drops, tobramycin and dexamethasone; Models, biological; Rats, Wistar

角膜病是中国主要的致盲眼病之一,目前角膜移植术是治疗角膜盲可靠、有效的复明手段。角膜属于免疫赦免器官,因此角膜移植术植片成活率较高,但是角膜移植术后的免疫排斥反应仍然是导致手术失败的首要原因。器官移植术后的免疫排斥反应是一个由多种细胞及活化因子共同参与的、复杂的免疫应答过程。近年来的研究证实,辅助性T细胞17(T helper cell 17, Th17)及其主要效应分子白细胞介素-17(interleukin-17, IL-17)在器官移植免疫排斥反应中发挥重要作用^[1],此外IL-22也是Th17细胞重要的效应分子^[2-3]。IL-22的表达依赖于Notch-配体依赖型芳香烃受体(aryl hydrocarbon receptor, AhR)信号通路的调控,其中Notch信号主要通过刺激配体依赖性转录因子AhR来上调IL-22的表达^[4]。目前已开展了IL-22对心脏、肝脏及骨髓等器官移植方面影响的研究^[5-7],但其在大鼠角膜移植排斥反应中的作用尚不确定。本

研究中建立同种大鼠角膜移植模型,采用荧光定量PCR技术检测大鼠角膜组织中IL-22 mRNA的表达变化,探讨IL-22在角膜移植排斥反应中的作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 选用SPF级雌性SD大鼠24只,SPF级雌性Wistar大鼠76只,体质量180~220 g,均由南方医科大学动物实验室提供并饲养。按照随机数字表法将受体大鼠随机分为自体角膜移植组、同种异体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组,另取4只健康Wistar大鼠作为正常对照组。实验动物的喂养和使用均遵循广东省实验动物管理条例,本研究经南方医科大学伦理委员会审查批准。

1.1.2 主要试剂 质量分数3%戊巴比妥钠注射液(南方医科大学南方医院实验动物中心提供);复方托

毗卡胺滴眼液(日本 Santen 公司);妥布霉素地塞米松滴眼液(美国 Alcon 公司);RNA 提取与逆转录试剂盒、荧光定量 PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司);引物由上海英潍捷基贸易有限公司合成。

1.2 方法

1.2.1 角膜移植模型的建立及干预 (1) 同种异体大鼠角膜移植模型的建立 24 只 SD 大鼠作为供体, 48 只 Wistar 大鼠作为受体。参照 Williams 等^[8]的方法建立同种异体大鼠角膜移植模型。按 1.5 ml/kg 的剂量腹腔内注射 3% 戊巴比妥钠麻醉受体 Wistar 大鼠, 术前用生理盐水冲洗结膜囊, 复方托毗卡胺滴眼液点眼充分扩瞳。手术显微镜下采用直径 3.5 mm 环钻取供体角膜植片, 以直径 3.0 mm 环钻制备受体眼植床, 术中注入黏弹剂以保持前房深度, 将植片置于植床, 以 10-0 尼龙线间断缝合 8 针, 线结不包埋, 前房内注入少量平衡盐溶液形成前房。术毕结膜囊涂氧氟沙星眼膏, 缝合睑缘。(2) 自体角膜移植模型的建立以直径 3.0 mm 环钻钻取 24 只 Wistar 大鼠自身角膜植片, 旋转 180° 后间断缝合 8~10 针, 其余处理同同种异体角膜移植模型。术中发生前房出血、术后发生虹膜粘连及白内障者均视为手术失败, 剔除并及时补充实验动物, 所有模型均由同一术者完成。同种异体角膜移植抗排斥组大鼠术后 1 d 起给予妥布霉素地塞米松滴眼液点眼, 每日 2 次, 每次 1 滴, 共 2 周。其他 2 个组大鼠均不做任何处理。

1.2.2 角膜植片的免疫排斥反应观察 术后每日在裂隙灯显微镜下观察各组角膜植片情况, 连续观察 14 d, 14 d 后隔日观察 1 次, 观察期为 30 d。参照 Larkin 等^[9]的方法, 对角膜透明度、水肿程度及新生血管 3 项指标进行评分, 3 项评分之和为当日排斥反应指数(rejection index, RI), 当 RI≥5 分或者植片混浊度达到 3 分时, 视为免疫排斥反应发生。

1.2.3 角膜植片的组织病理学检测 各组大鼠分别于术后第 5 天、第 14 天任意取 3 只模型大鼠麻醉后沿角膜缘剪开球结膜并逐步分离, 离断视神经后取出完整眼球, 用质量分数 4% 多聚甲醛固定, 固定完成后将眼球沿矢状面切开, 去除晶状体并置入包埋盒中, 常规梯度乙醇脱水, 石蜡包埋, 5 μm 厚连续切片, 苏木精-伊红染色, 光学显微镜下观察角膜的组织病理学变化。

1.2.4 实时荧光定量 PCR 法检测植片中 IL-22 mRNA 及 AhR mRNA 的相对表达 各组分别于术后第 5 天、第 14 天任意取 5 只角膜, 置于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。将角膜置于含 1 ml Trizol 的离心管中, 采用 Trizol 一步法提取总 RNA, 行琼脂糖凝胶电泳检测, 在

Nanodrop 分光光度计上测定 RNA 浓度, 以 DEPC 水作空白对照, 同时记录 RNA 浓度及波长为 260 nm 和 280 nm 处的吸光度(A), 计算 A_{260}/A_{280} 值; 用逆转录试剂盒将 mRNA 逆转录成 cDNA, 以 GADPH 为内参。大鼠 GADPH 上游引物: 5'-GGCATTGCTCTCAATGACAAC-3', 下游引物: 5'-TGCTCTCAGTATCCTTGCTG-3'; IL-22 上游引物: 5'-GAGGAGTCAAAGCCAAGGAT-3', 下游引物: 5'-CTGAGCTTGGTCAGGAAAGG-3'; AhR 上游引物: 5'-CAGGACCAACACAAACTGG-3', 下游引物: 5'-ATATCCCGATCCTTGTGC-3'。参照荧光定量 PCR 的说明书配制反应液, 采用三步法进行 PCR 反应。反应条件: 95 ℃ 预变性 30 s; 95 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 退火 34 s, 共 40 个循环。重复检测 2 次。实时荧光定量 PCR 数据采用 ABI 7500 v2.0.4 PCR 软件进行分析, 观察扩增曲线和融解曲线, 以 GADPH 为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法对角膜组织中 IL-22 mRNA 和 AhR mRNA 含量进行相对定量分析。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计学软件(美国 IBM 公司)进行统计分析。应用 Kaplan-Meier 生存分析法绘制角膜植片生存曲线, 采用 Log-Rank 检验对角膜植片生存曲线进行假设检验, 比较自体角膜移植组、同种异体角膜移植组和抗排斥组大鼠角膜植片的存活时间。本研究 PCR 测量指标的数据资料经 Shapiro-Wilk 检验证实呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数经 Levene 检验证实方差齐。采用随机分组 4 水平实验设计, 正常对照组、自体角膜移植组、同种异体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组大鼠间角膜植片中 IL-22 mRNA 和 AhR mRNA 相对表达量的总体差异比较采用单因素方差分析, 组间多重比较采用 LSD-t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组角膜植片的排斥反应观察

术后 3 d 内, 各组角膜均出现轻度水肿和混浊, 自体角膜移植组和同种异体角膜移植组大鼠角膜缘出现新生血管, 同种异体角膜移植抗排斥组角膜缘未见新生血管; 术后 5 d, 自体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组角膜水肿、混浊减轻, 同种异体角膜移植组角膜水肿加重, 植片增厚, 自体角膜移植组和同种异体角膜移植组角膜新生血管生长至植片半径 75% 处; 术后 10 d, 同种异体角膜移植组角膜植片中度混浊, 虹膜血管窥不清, 自体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组角膜植片透明, 水肿消退, 自体角膜移植组和同

种异体角膜移植组新生血管生长至植片半径 25% 处; 术后 14 d, 同种异体角膜移植组角膜植片混浊加重, 自体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组角膜植片完全透明, 自体角膜移植组和同种异体角膜移植组新生血管均长至植片中央, 而同种异体角膜移植抗排斥组新生血管局限于角膜缘(图 1)。

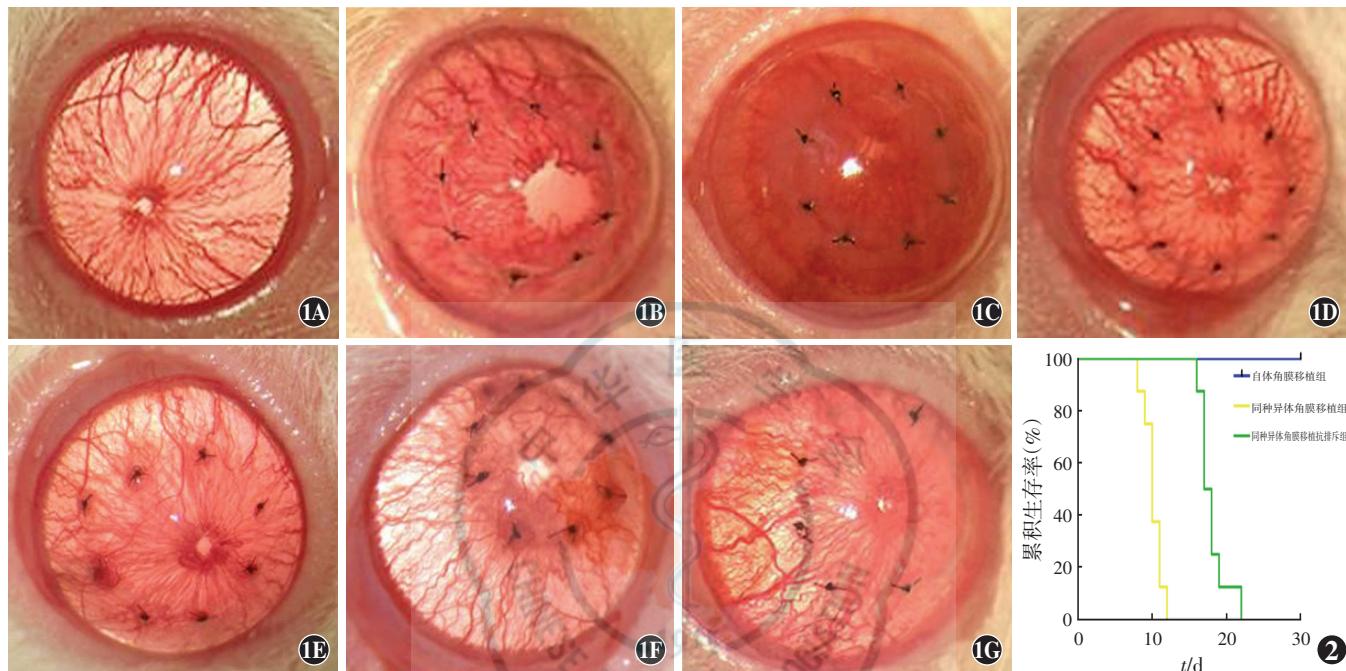


图 1 裂隙灯显微镜下各组大鼠角膜植片的表现 A: 正常对照组大鼠角膜透明, 可见虹膜血管 B: 术后 5 d 自体角膜移植组角膜水肿, 可见大量新生血管 C: 术后 5 d 同种异体角膜移植组角膜水肿和混浊, 可见大量新生血管, 虹膜窥不清 D: 术后 5 d 同种异体角膜移植抗排斥组角膜水肿, 但植片透明 E: 术后 14 d 自体角膜移植组角膜较术后 5 d 透明 F: 同种异体角膜移植组术后 14 d 角膜水肿, 植片中央可见大量新生血管 G: 同种异体角膜移植抗排斥组术后 14 d 角膜植片透明 图 2 各组大鼠角膜植片的生存曲线 同种异体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组大鼠角膜植片平均存活时间分别为 10 d 和 17 d, 自体角膜移植组角膜植片 30 d 时均存活

2.3 各组角膜组织病理学变化

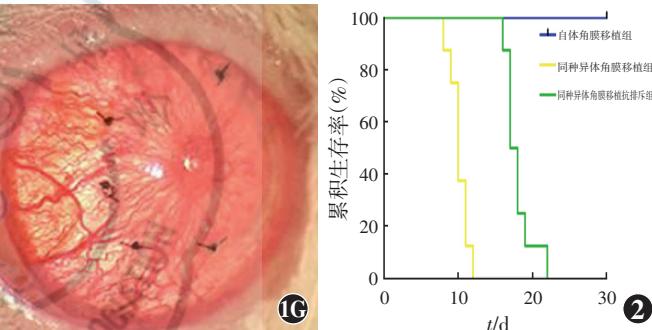
正常对照组大鼠角膜上皮层由 5~6 层细胞组成, 基质层胶原排列整齐, 无水肿, 无淋巴细胞及单核巨噬细胞等炎性细胞浸润。同种异体角膜移植组术后 5 d 角膜植片显著水肿、增厚, 基质层胶原排列紊乱, 有大量炎性细胞浸润, 并可见新生血管管腔, 术后 14 d 更为明显。自体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组角膜结构正常, 基质层仅有少量炎性细胞浸润(图 3)。

2.4 各组大鼠角膜组织中 IL-22 mRNA 和 AhR mRNA 的表达变化

各组角膜组织中均检测到 IL-22 mRNA 表达, 术后不同时间点大鼠角膜中 IL-22 mRNA 相对表达量的总体比较差异均有统计学意义(术后 5 d: $F=2.44, P=0.00$; 术后 14 d: $F=267.92, P=0.00$)。术后 5 d、14 d, 同种异体角膜移植组大鼠角膜中 IL-22 mRNA 的相对表达量明显升高, 正常对照组、自体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组大鼠角膜中 IL-22 mRNA 的相

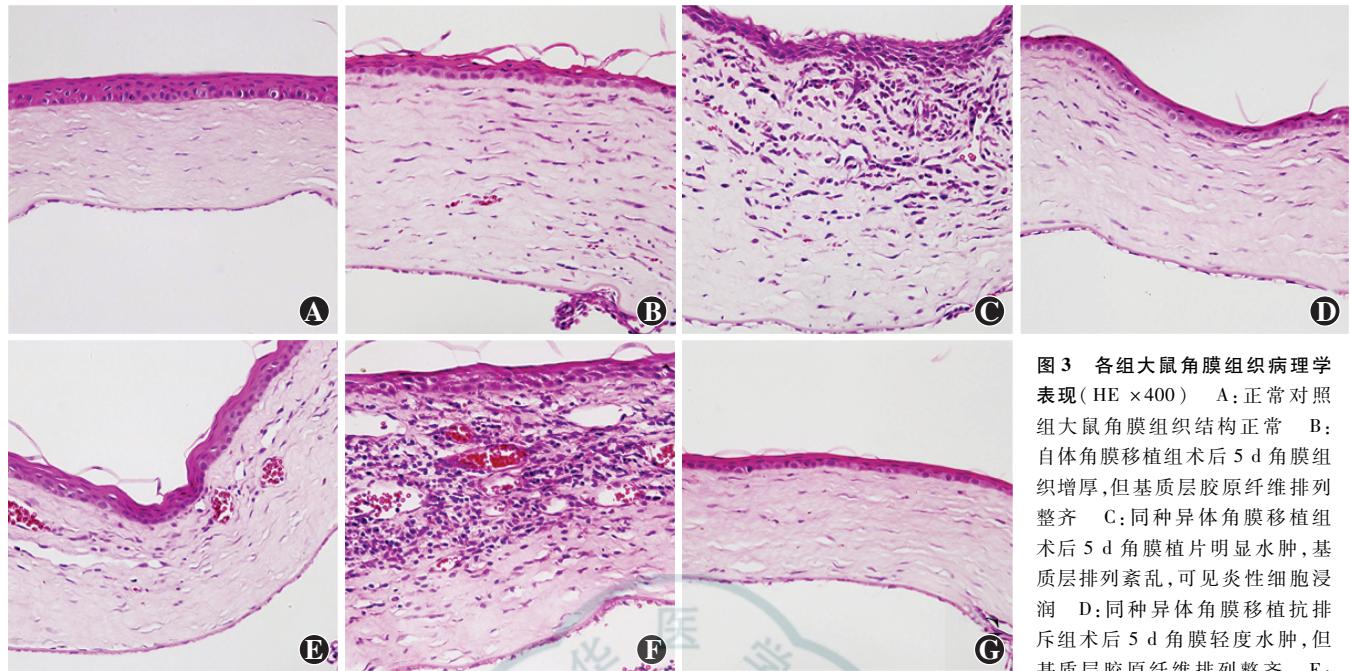
2.2 各组角膜植片存活时间比较

同种异体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组大鼠角膜植片平均存活时间分别为 10 d 和 17 d, 自体角膜移植组角膜植片 30 d 时均存活。角膜植片生存曲线组间比较差异有统计学意义($\chi^2 = 16.442, P = 0.000$)(图 2)。



对表达量明显低于同种异体角膜移植组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。术后 14 d, 正常对照组与自体角膜移植组、自体角膜移植组与同种异体角膜移植抗排斥组、正常对照组与同种异体角膜移植抗排斥组间大鼠角膜中 IL-22 mRNA 表达量的比较差异均无统计学意义($P = 0.458, 0.170, 0.051$)。自体角膜移植组与正常对照组间术后不同时间点大鼠角膜中 IL-22 mRNA 的相对表达量比较差异均无统计学意义(术后 5 d: $P = 0.450$; 术后 14 d: $P = 0.735$)(表 1)。

各组大鼠不同时间点角膜组织中 AhR mRNA 相对表达量明显不同, 总体比较差异均有统计学意义(术后 5 d: $F = 395.73, P = 0.00$; 术后 14 d: $F = 942.37, P = 0.00$)。术后 5 d、14 d, 正常对照组、自体角膜移植组和同种异体角膜移植抗排斥组角膜中 AhR mRNA 的相对表达量均明显低于同种异体角膜移植组, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)(表 1)。



自体角膜移植组术后 14 d 角膜组织轻度水肿、增厚 F: 同种异体角膜移植组术后 14 d 可见角膜明显水肿、增厚, 基质层纤维排列紊乱, 可见炎性细胞浸润, 并可见新生血管管腔 G: 同种异体角膜移植抗排斥组术后 14 d 角膜组织结构接近正常

表 1 术后不同时间点各组角膜组织中 IL-22 mRNA 及 AhR mRNA 相对表达量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	IL-22 mRNA 相对表达量		AhR mRNA 相对表达量	
	术后 5 d (n=5)	术后 14 d (n=5)	术后 5 d (n=5)	术后 14 d (n=5)
正常对照组	1.12±0.11 ^a	1.04±0.15 ^a	0.93±0.12 ^a	0.96±0.09 ^a
自体角膜移植组	1.92±0.18 ^a	1.75±0.75 ^a	1.58±0.25 ^a	1.69±0.12 ^a
同种异体角膜移植组	9.70±0.35	23.12±1.89	2.52±0.32	7.20±0.25
同种异体角膜移植抗排斥组	0.46±0.21 ^a	3.14±0.94 ^a	1.89±0.10 ^a	2.60±0.17 ^a
F	2.44	267.92	395.73	942.37
P	0.00	0.00	0.00	0.00

注:与相应时间点同种异体角膜移植组比较,^aP<0.05(单因素方差分析,LSD-t 检验) IL:白细胞介素; AhR:芳香烃受体

3 讨论

角膜移植术后免疫排斥反应是由多种天然免疫及获得性免疫细胞、活化因子介导的免疫应答过程。同种异体反应性 T 细胞, 包括细胞毒性 T 细胞、CD4⁺ Th 细胞, 已被证实再角膜移植术后的排斥反应中发挥着关键作用^[10]。根据分泌细胞因子类型的不同, CD4⁺ Th 细胞可以进一步分化为 Th1、Th2 及新近发现的 Th9、Th17 和 Th22 等细胞亚群^[11]。既往研究认为, Th1 是器官移植排斥反应中的主要效应细胞, 目前 Th17 细胞及 IL-17A 也被证实参与同种器官移植排斥反应, 但其在角膜移植排斥反应中的作用尚存在争议^[12]。然而, IL-22 作为 Th17 细胞的另一重要效应分子, 目前在大鼠角膜移植排斥反应方面尚未见研究报道。

IL-22 是 IL-10 家族成员之一, 最初被归类为 Th1 型细胞因子, 随着新型 CD4⁺ Th 细胞亚群的发现, Th17 和 Th22 细胞被证实是 IL-22 的重要来源^[3,13], 新近研究表明, 自然杀伤细胞及淋巴组织诱导细胞也可以分泌 IL-22^[14]。IL-22 的受体是由 IL-22R1 和 IL-10R2 组成的双链复合物, 主要表达于组织细胞, 包括上皮和内皮细胞中, 而在免疫细胞中表达缺失^[15], 因此 IL-22 是免疫系统和靶器官上皮组织之间作用的桥梁。IL-22 与其受体结合后, 主要通过激活 JAK/STAT3 信号通路来发挥效应, 还可激活 3 条主要的丝裂原活化蛋白激酶通路: MEK-ERK-RSK 通路、JNK/SAPK 通路和 p38 激酶通路^[16]。研究发现, 在 IL-22 的转录调控过程中, STAT3 和 Notch 信号均有参与, 然而 Th17 和 Th22 细胞中 IL-22 的表达高度依赖于 Notch-AhR 信号轴的调控, 其中 Notch 信号主要通过刺激配体依赖性转录因子 AhR 来上调 IL-22 的表达^[17-18]。Veldhoen 等^[4]研究发现, AhR 表达缺陷小鼠来源的 CD4⁺ T 细胞虽可分化为 Th17 细胞, 但与 AhR 配体相结合却无 IL-22 产生, 进一步证实了 AhR 对 IL-22 表达的关键调控作用。本研究中发现, 在各组角膜组织中 AhR mRNA 的表达与 IL-22 mRNA 的表达趋势一致, 同时也与目前相关研究结果相符^[19], 这将为 IL-22 在免疫调节中的深入研究提供有效的依据。

IL-22 是一种多效性细胞因子, 在皮肤、呼吸道和胃肠道炎症性疾病、类风湿性关节炎及肿瘤方面主要

发挥致病性作用,而在 T 细胞介导的急性肝炎中可发挥组织再生和损伤修复的作用。目前,IL-22 在器官移植免疫排斥反应中的作用尚存在争议,Kapessidou 等^[5]利用 IL-22 基因敲除小鼠建立心脏移植模型,结果显示 IL-22 表达缺陷可加速受体针对主要组织相容性复合体完全不匹配心脏移植植物排斥反应的发生,表明 IL-22 在心脏移植排斥反应中发挥保护性作用。Hanash 等^[20]以 IL-22^{-/-} BALB/c 小鼠为受体建立异基因骨髓移植模型,观察到 IL-22^{-/-} 小鼠急性移植植物抗宿主疾病(graft-versus-host disease, GVHD) 的死亡率明显升高及靶器官组织损伤加重,同时 IL-23 反应性固有淋巴细胞及其分泌的 IL-22 数量显著降低,证实了受体来源的 IL-22 是 GVHD 免疫病理过程中一个重要的保护性调节因子。然而,新近研究表明对异基因造血干细胞移植受体输注供体 IL-22^{-/-} T 细胞可减轻小鼠急性 GVHD 的严重程度,并且能够限制系统和 GVHD 靶器官局部炎性介质的产生,证明了 IL-22 在 GVHD 免疫病理过程中的损伤作用^[21]。本研究中通过对 3 个手术干预组角膜植片的生存时间发现,同种异体角膜植片的平均存活时间为 10 d,而妥布霉素地塞米松可以明显延长大鼠角膜植片的存活时间。术后第 5 天,3 个手术干预组 IL-22 mRNA 水平均较正常对照组升高,这可能与 IL-22/IL-22R 信号参与术后创伤性炎症反应有关。术后第 14 天,自体角膜移植组 IL-22 mRNA 表达量接近正常水平,而同种异体移植排斥组中 IL-22 mRNA 表达水平异常升高,应用妥布霉素地塞米松可显著降低,因此推测 IL-22 可能参与同种异体大鼠角膜移植排斥反应。

本研究的不足之处在于未检测大鼠角膜组织中 IL-22 蛋白表达情况,且术后检测的时间点偏少,有待进一步完善。应用外源性 IL-22、IL-22 单克隆抗体、RNA 干扰及流式细胞术等进行深入研究,进一步明确 IL-22 在角膜移植排斥反应中的具体作用机制及其来源,将为预防和治疗角膜移植排斥反应,提高移植植物存活率提供新的策略。

参考文献

- [1] Heidt S, Segundo DS, Chadha R, et al. The impact of Th17 cells on transplant rejection and the induction of tolerance [J]. Curr Opin Organ Transplant, 2010, 15(4): 456–461. doi:10.1097/MOT.0b013e32833b9fb.
- [2] Chung Y, Yang X, Chang SH, et al. Expression and regulation of IL-22 in the IL-17-producing CD4⁺ T lymphocytes [J]. Cell Res, 2006, 16(11): 902–907. doi:10.1038/sj.cr.7310106.
- [3] Liang SC, Tan XY, Luxenberg DP, et al. Interleukin (IL)-22 and IL-17 are coexpressed by Th17 cells and cooperatively enhance expression of antimicrobial peptides [J]. J Exp Med, 2006, 203(10): 2271–2279. doi:10.1084/jem.20061308.
- [4] Veldhoen M, Hirota K, Westendorf AM, et al. The aryl hydrocarbon receptor links TH17-cell-mediated autoimmunity to environmental toxins [J]. Nature, 2008, 453(7191): 106–109. doi:10.1038/nature06881.
- [5] Kapessidou P, Poulin L, Dumoutier L, et al. Interleukin-22 deficiency accelerates the rejection of full major histocompatibility complex-disparate heart allografts [J]. Transplant Proc, 2008, 40(5): 1593–1597. doi:10.1016/j.transproceed.2008.03.151.
- [6] 王小飞, 张轶, 张玉君, 等. IL-17 及 IL-22 在大鼠肝移植排斥反应中的表达及意义 [J]. 免疫学杂志, 2012, 28(5): 369–373. doi:10.13431/j.enki.immunol.j.20120086.
- [7] 赵恺, 黄栋, 赵冬梅, 等. 异基因骨髓移植并发移植植物抗宿主病小鼠体内 IL-22 的细胞来源 [J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(6): 1526–1529. doi:10.7534/j.issn.1009-2137.2013.06.030.
- [8] Williams KA, Coster DJ. Penetrating corneal transplantation in the inbred rat: a new model [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 1985, 26(1): 23–30.
- [9] Larkin DF, Calder VL, Lightman SL. Identification and characterization of cells infiltrating the graft and aqueous humour in rat corneal allograft rejection [J]. Clin Exp Immunol, 1997, 107(2): 381–391. doi:10.1111/j.1365-2249.1997.279-ce1171.x.
- [10] Streilein JW. Immunobiology and immunopathology of corneal transplantation [J]. Chem Immunol, 1999, 73: 186–206. doi:10.1159/000058746.
- [11] Liu Z, Fan H, Jiang S. CD4(+) T-cell subsets in transplantation [J]. Immunol Rev, 2013, 252(1): 183–191. doi:10.1111/imr.12038.
- [12] Chen X, Zhao S, Tang X, et al. Neutralization of mouse interleukin-17 bioactivity inhibits corneal allograft rejection [J]. Mol Vis, 2011, 17: 2148–2156.
- [13] Trifari S, Kaplan CD, Tran EH, et al. Identification of a human helper T cell population that has abundant production of interleukin 22 and is distinct from T(H)-17, T(H)1 and T(H)2 cells [J]. Nat Immunol, 2009, 10(8): 864–871. doi:10.1038/ni.1770.
- [14] Vivier E, Spits H, Cupedo T. Interleukin-22-producing innate immune cells: new players in mucosal immunity and tissue repair? [J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9(4): 229–234. doi:10.1038/nri2522.
- [15] Wolk K, Kunz S, Witte E, et al. IL-22 increases the innate immunity of tissues [J]. Immunity, 2004, 21(2): 241–254.
- [16] Lejeune D, Dumoutier L, Constantinescu S, et al. Interleukin-22 (IL-22) activates the JAK/STAT, ERK, JNK, and p38 MAP kinase pathways in a rat hepatoma cell line. Pathways that are shared with and distinct from IL-10 [J]. J Biol Chem, 2002, 277(37): 33676–33682. doi:10.1074/jbc.M204204200.
- [17] Ouyang W, Rutz S, Crellin NK, et al. Regulation and functions of the IL-10 family of cytokines in inflammation and disease [J]. Annu Rev Immunol, 2011, 29: 71–109. doi:10.1146/annurev-immunol-031210-101312.
- [18] Alam MS, Maekawa Y, Kitamura A, et al. Notch signaling drives IL-22 secretion in CD4⁺ T cells by stimulating the aryl hydrocarbon receptor [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(13): 5943–5948. doi:10.1073/pnas.0911755107.
- [19] Brembilla NC, Ramirez JM, Chicheportiche R, et al. In vivo dioxin favors interleukin-22 production by human CD4⁺ T cells in an aryl hydrocarbon receptor (AhR)-dependent manner [J/OL]. PLoS One, 2011, 6(4): e18741 [2015-01-13]. <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0018741>. doi:10.1371/journal.pone.0018741.
- [20] Hanash AM, Dudakov JA, Hua G, et al. Interleukin-22 protects intestinal stem cells from immune-mediated tissue damage and regulates sensitivity to graft versus host disease [J]. Immunity, 2012, 37(2): 339–350.
- [21] Couturier M, Lamarthe B, Arbez J, et al. IL-22 deficiency in donor T cells attenuates murine acute graft-versus-host disease mortality while sparing the graft-versus-leukemia effect [J]. Leukemia, 2013, 27(7): 1527–1537. doi:10.1038/leu.2013.39.

(收稿日期:2015-03-05)

(本文编辑:尹卫靖 张宇)