· 临床研究 ·

IL-6、TGF-β、IL-17与角膜移植排斥反应的相关性及预测价值

张永倩[1]　何丽芬[1]　王九三[1]　谢勇贤[2]　曹倩[3]　李兰[3]

[1]云南省保山市第二人民医院眼科，保山 678000；[2]威信县人民医院眼科，昭通 657900；[3]昆明医科大学附属甘美医院眼科　昆明市第一人民医院，昆明 650224

张永倩为昆明市第一人民医院研究生；谢勇贤为昆明市第一人民医院进修医师

通信作者：李兰，Email：641106144@qq.com

【摘要】 目的　探讨穿透性角膜移植术（PKP）患者术后外周血和泪液中白细胞介素6（IL-6）、转化生长因子β（TGF-β）、IL-17表达水平与角膜移植排斥反应的相关性及预测价值。 **方法**　采用横断面研究，收集2023年11月至2024年11月于昆明市第一人民医院行PKP治疗的患者78例78眼，记录患者眼部情况、病史及一般资料，根据角膜排斥反应指数（RI）将患者分为免疫耐受组42例（RI<5分）和免疫排斥组36例（RI≥5分）。采集患者外周血和泪液样本，由于部分患者泪液采集不足和采集前2 h使用滴眼液等原因，排除部分患者，最终共32例患者泪液样本纳入研究，其中免疫耐受组和免疫排斥组各16例。采用酶联免疫吸附试验（ELISA）检测患者外周血及泪液IL-6、TGF-β、IL-17浓度，比较2个组各细胞因子差异；采用Spearman秩相关分析评估IL-6、TGF-β、IL-17与角膜移植排斥反应的相关性；采用Logistic回归分析角膜移植排斥的影响因素；采用受试者工作特征（ROC）曲线评估外周血和泪液细胞因子在角膜移植排斥反应中的预测价值。 **结果**　免疫耐受组患者外周血和泪液IL-6浓度、IL-17浓度、IL-6/TGF-β值和IL-17/TGF-β值均低于免疫排斥组，差异均有统计学意义（外周血：t=−2.688、−2.945，Z=−6.084、−6.124，均P<0.05；泪液：t=−3.511、−3.555，Z=−3.618、−3.580，均P<0.05）；免疫耐受组外周血和泪液TGF-β浓度均高于免疫排斥组，差异均有统计学意义（t=7.620、3.032，均P<0.05）。Spearman秩相关性分析结果显示，PKP患者外周血和泪液IL-6浓度、IL-17浓度与角膜移植排斥反应均呈正相关（外周血：r_s=0.334、0.343，均P<0.05；泪液：r_s=0.518、0.538，均P<0.05），外周血和泪液TGF-β浓度与角膜移植排斥反应均呈负相关（r_s=−0.662、−0.502，均P<0.05）。单因素二元Logistic回归分析显示，外周血和泪液IL-6、TGF-β、IL-17均是角膜移植排斥反应的影响因素（均P<0.05）；多因素二元Logistic回归分析显示，外周血和泪液TGF-β均是角膜移植排斥反应的独立保护因素（均P<0.05）。ROC曲线结果显示，外周血TGF-β预测角膜移植排斥反应的曲线下面积（AUC）为0.883（P<0.001），敏感度为72.2%，特异度为92.9%。泪液TGF-β预测角膜移植排斥反应的AUC为0.789（P=0.005），敏感度为81.3%，特异度为68.7%。 **结论**　角膜移植排斥反应与患者外周血和泪液IL-6、IL-17浓度呈正相关，与TGF-β浓度呈负相关。外周血及泪液TGF-β是角膜移植排斥反应发生的独立保护因素，对角膜移植排斥反应的发生具有较高的预测价值，且外周血TGF-β的预测价值优于泪液，是预测角膜移植排斥反应更优的潜在生物标志物。

【关键词】 角膜移植；免疫排斥；白细胞介素6；转化生长因子β；白细胞介素17

基金项目： 云南省科技厅科技计划（202401AY070001-160）；云南省科技厅重大科技专项计划（202302AA310018-C-2）

DOI：10.3760/cma.j.cn115989-20260306-00095

Correlation and predictive value of IL-6, TGF-β, and IL-17 with corneal graft rejection

Zhang Yongqian[1], He Lifen[1], Wang Jiusan[1], Xie Yongxian[2], Cao Qian[3], Li Lan[3]

[1]Department of Ophthalmology, the Second People's Hospital of Baoshan, Baoshan 678000, China; [2]Department of Ophthalmology, Weixin County People's Hospital, Zhaotong 657900, China; [3]Department of Ophthalmology, Calmette Hospital Affiliated to Kunming Medical University, the First People's Hospital of Kunming, Kunming 650224, China

Zhang Yongqian was a postgraduate student at the First People's Hospital of Kunming; Xie Yongxian was a

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

refresher physician at the First People's Hospital of Kunming
Corresponding author: Li Lan, Email: 641106144@qq.com

[Abstract] **Objective** To investigate the correlation and predictive value of interleukin (IL)-6 , transforming growth factor-β (TGF-β), and IL-17 expression levels in peripheral blood and tears with corneal graft rejection after penetrating keratoplasty (PKP). **Methods** A cross-sectional study was conducted. A total of 78 patients (78 eyes) with PKP who visited the First People′s Hospital of Kunming from November 2023 to November 2024 were enrolled. Ocular conditions, medical history, and general data of patients were recorded. According to the corneal rejection index (RI), patients were divided into an immune tolerance group (42 cases, RI<5 points) and an immune rejection group (36 cases, RI≥5 points). Peripheral blood and tear samples were collected. Due to insufficient tear collection in some patients and the use of eye drops within 2 hours before collection, some patients were excluded. Finally, tear samples from 32 patients were included, with 16 in the immune tolerance group and 16 in the immune rejection group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the concentrations of IL-6, TGF-β, and IL-17 in peripheral blood and tears, and the differences in cytokines between the two groups were compared. Spearman rank correlation analysis was used to evaluate the correlation of IL-6, TGF-β, and IL-17 with corneal graft rejection. Logistic regression was used to analyze the influencing factors of corneal graft rejection. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to evaluate the predictive value of peripheral blood and tear cytokines for corneal graft rejection. This study complied with the Declaration of Helsinki. The study protocol was approved by the Ethics Committee of the First People′s Hospital of Kunming (No. YSL2023-67). All participants were informed of the purpose of this study and signed informed consent forms. **Results** The concentrations of IL-6 and IL-17, IL-6/TGF-β ratio, and IL-17/TGF-β ratio in peripheral blood and tears in the immune tolerance group were lower than those in the immune rejection group, and the differences were statistically significant (peripheral blood: t=−2.688, −2.945, Z=−6.084, −6.124, all P<0.05; tears: t=−3.511, −3.555, Z=−3.618, −3.580, all P<0.05). The TGF-β concentrations in peripheral blood and tears in the immune tolerance group were higher than those in the immune rejection group, and the differences were statistically significant (t=7.620, 3.032, both P<0.05). Spearman correlation analysis showed that IL-6 and IL-17 concentrations in peripheral blood and tears of PKP patients were positively correlated with corneal graft rejection (peripheral blood: r_s=0.334, 0.343, both P<0.05; tears: r_s=0.518, 0.538, both P<0.05), while TGF-β concentrations in peripheral blood and tears were negatively correlated with corneal graft rejection (r_s=−0.662, −0.502, both P<0.05). Univariate binary logistic regression analysis showed that IL-6, TGF-β, and IL-17 in peripheral blood and tears were all influencing factors for corneal graft rejection (all P<0.05); multivariate binary logistic regression analysis showed that TGF-β in peripheral blood and tears was an independent protective factor for corneal graft rejection (both P<0.05). ROC curve results showed that the area under the curve (AUC) of peripheral blood TGF-β for predicting corneal graft rejection was 0.883 (P<0.001), with a sensitivity of 72.2% and specificity of 92.9%. The AUC of tear TGF-β for predicting corneal graft rejection was 0.789 (P=0.005), with a sensitivity of 81.3% and specificity of 68.7%. **Conclusions** Corneal graft rejection is positively correlated with IL-6 and IL-17 concentrations in peripheral blood and tears, and negatively correlated with TGF-β concentration. TGF-β in peripheral blood and tears is an independent protective factor for the occurrence of corneal graft rejection and has high predictive value for the occurrence of corneal graft rejection. Moreover, peripheral blood TGF-β has better predictive value than tear TGF-β, making it a potentially superior biomarker for predicting corneal graft rejection.

[Key words] Corneal transplantation; Immune rejection; Interleukin-6; Transforming growth factor-β; Interleukin-17

Fund program: Yunnan Provincial Department of Science and Technology Science and Technology Program (202401AY070001-160); Yunnan Provincial Department of Science and Technology Major Science and Technology Special Program (202302AA310018-C-2)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20260306-00095

角膜移植术是终末期角膜病的最终治疗手段，可为大量视力丧失患者重建视功能。然而，免疫排斥反应仍是角膜移植失败的首要原因，占所有手术失败病例的50%[1]。据统计，角膜移植术后免疫排斥反应的

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

发生率为10%~30%，而在高危角膜移植（新生血管、多次角膜移植及活动性炎症等）患者中，这一比例可高达50%[2]。角膜移植排斥反应是多种免疫细胞及细胞因子共同参与的复杂过程，Th17/Treg细胞平衡是维持眼免疫赦免特性的关键因素，在维持前房免疫微环境稳态中发挥重要作用，其中白细胞介素6（interleukin-6，IL-6）、转化生长因子β（transforming growth factor-β，TGF-β）和IL-17可通过调节Th17/Treg细胞平衡，介导排斥反应发生，在该病理过程中起着关键调控作用[3]。目前针对穿透性角膜移植术（penetrating keratoplasty，PKP）患者外周血和泪液中细胞因子浓度与角膜移植排斥反应相关性的研究较少，基于此，本研究拟通过检测PKP患者外周血和泪液中IL-6、TGF-β、IL-17的表达，分析其与排斥反应的相关性，并评估其在角膜移植排斥反应中的预测价值，从而为预防和治疗角膜移植排斥反应提供新策略。

1　资料与方法

1.1　一般资料

采用横断面研究，收集2023年11月至2024年11月于昆明市第一人民医院行PKP治疗的患者78例78眼。纳入标准：（1）年龄18~80岁；（2）行PKP术后3个月以上；（3）自愿参与本研究。排除标准：（1）有眼部及全身活动性感染者；（2）合并其他眼部疾病者，如青光眼、视网膜病变等；（3）类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等免疫相关性疾病患者；（4）半年内发生眼外伤及行眼部其他手术者；（5）有慢性睑缘炎、过敏性结膜炎、非感染性角膜炎、中重度干眼等眼表非特异性炎症者；（6）行除PKP外其他器官移植手术者。根据文献[4]中的角膜移植排斥反应评分标准，角膜排斥反应指数（rejection index，RI）≥5分视为发生免疫排斥反应，将患者分为免疫耐受组42例42眼和免疫排斥组36例36眼。部分入组角膜移植患者术后存在干眼症状，导致泪液采集量不足，且部分患者在采集前2 h内曾使用滴眼液，为避免泪液稀释误差及滴眼液对泪液细胞因子的潜在影响，将该部分患者排除，最终共32例患者泪液样本纳入研究，其中免疫耐受组和免疫排斥组各16例。血液样本和泪液样本分析中2个组基线资料比较差异均无统计学意义（均P>0.05）（表1、2）。本研究遵循《赫尔辛基宣言》，研究方案经昆明市第一人民医院医学伦理委员会批准（批文号：YSL2023-67），所有参与者均对本研究知情并签署知情同意书。

表1　血液样本分析中2个组患者基线资料比较

Table 1　Comparison of baseline data of patients for blood sample analysis in the two groups

基线资料	免疫耐受组（n=42）	免疫排斥组（n=36）	t/χ^2值	P值
年龄（$\bar{x}\pm s$，岁）[a]	48.45±13.65	50.97±12.07	−0.869	0.387
性别（男/女，n）[b]	27/15	24/12	0.049	0.826
眼别（右/左，n）[b]	21/21	14/22	0.967	0.325
原发病[n（%）][b]			5.317	0.152
角膜白斑	16（50.00）	16（50.00）		
角膜化学伤	7（21.88）	8（25.00）		
眼外伤	9（28.12）	8（25.00）		
先天性角膜疾病	11（73.33）	4（26.67）		
角膜营养不良	4（26.67）	2（13.33）		
圆锥角膜	7（46.67）	2（13.33）		
感染性角膜疾病	6（35.29）	11（64.71）		
病毒感染	3（17.65）	6（35.29）		
细菌感染	2（11.76）	4（23.53）		
真菌感染	1（5.88）	1（5.88）		
角膜内皮失代偿	9（64.29）	5（35.71）		
白内障术后	6（42.86）	3（21.43）		
ICL植入术后	3（21.43）	2（14.29）		

注：（a：独立样本t检验；b：χ^2检验）　ICL：有晶状体眼后房型人工晶状体

Note: (a: Independent samples t-test; b: χ^2 test)　ICL: implantable collamer lenses

表2　泪液样本分析中2个组患者基线资料比较

Table 2　Comparison of baseline data of patients for tear sample analysis in the two groups

基线资料	免疫耐受组（n=16）	免疫排斥组（n=16）	t/χ^2值	P值
年龄（$\bar{x}\pm s$，岁）[a]	45.44±13.65	53.44±11.70	−1.780	0.085
性别（男/女，n）[b]	11/5	13/3		0.685
眼别（右/左，n）[b]	7/9	8/8		0.500
原发病[n（%）][b]				0.800
角膜白斑	4（40.00）	6（60.00）		
角膜化学伤	3（30.00）	4（40.00）		
眼外伤	1（10.00）	2（20.00）		
先天性角膜疾病	6（66.67）	3（33.33）		
角膜营养不良	3（33.33）	1（11.11）		
圆锥角膜	3（33.33）	2（22.22）		
感染性角膜疾病	4（44.44）	5（55.56）		
病毒感染	2（22.22）	3（33.33）		
细菌感染	2（22.22）	2（22.22）		
角膜内皮失代偿	2（50.00）	2（50.00）		
白内障术后	1（25.00）	1（25.00）		
ICL植入术后	1（25.00）	1（25.00）		

注：（a：独立样本t检验；b：Fisher精确检验）　ICL：有晶状体眼后房型人工晶状体

Note: (a: Independent samples t-test; b: Fisher exact test)　ICL: implantable collamer lenses

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

1.2 方法

1.2.1 患者基本情况 记录患者眼部原发病及手术情况(包括手术时间、手术方式、术者、术后用药情况)、全身疾病、眼部外伤史、手术史、眼部其他疾病史以及一般资料(如性别、年龄)等情况;采用裂隙灯显微镜检查植片水肿、混浊及新生血管生长情况并拍照记录。

1.2.2 样本采集及检测 (1)血液样本 使用5 ml真空采血管采集患者血液样本,上下轻轻颠倒混匀,离心半径10 cm,3 000 r/min离心10 min,取上清液置于冻存管中,-80 ℃冰箱冻存。(2)泪液样本 患者近2 h内未使用滴眼液,于安静环境中、无表面麻醉情况下采集患者术眼泪液样本。采集者戴无菌手套,将Schirmer试纸一端反折5 mm后置于患者术眼下穹窿结膜囊,若滤纸浸湿≤10 mm/5 min,提示患者存在干眼可能,予以排除;若滤纸浸湿>10 mm/5 min则继续采集,待试纸浸润达30 mm时取出试纸条,置于冻存管后立即转入-80 ℃冰箱冻存备用。实验时用剪刀剪碎滤纸条后加入200 μl 1×磷酸盐缓冲液洗脱,离心半径10 cm,3 000 r/min离心10 min后取上清液检测。采用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)检测试剂盒(IL-6试剂盒和IL-17试剂盒购自江苏酶免实业有限公司,TGF-β试剂盒购自上海江莱生物科技有限公司)检测外周血及泪液中IL-6、IL-17、TGF-β浓度。所有操作均由实验室同一实验人员严格按照ELISA试剂盒说明书进行。

1.3 统计学方法

采用SPSS 29.0和GraphPad Prism10软件进行统计学分析。计量资料经Shapiro-Wilk检验证实符合正态分布者以$\bar{x}\pm s$表示,组间比较采用独立样本t检验;不符合正态分布者以$M(Q_1,Q_3)$表示,组间比较采用Mann-Whitney U检验。计数资料以频数和百分比表示,组间比较采用χ^2检验(当理论频数<5时采用Fisher精确检验)。采用Spearman秩相关分析评估IL-6、TGF-β、IL-17与角膜移植排斥反应的相关性,采用Logistic回归分析角膜移植排斥反应的影响因素,采用受试者工作特征(receiver operating characteristic,ROC)曲线评估各细胞因子在角膜移植排斥反应中的预测价值。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血IL-6、TGF-β、IL-17与角膜移植排斥反应的相关性及预测价值分析

2.1.1 2个组患者外周血IL-6、TGF-β、IL-17、IL-6/TGF-β和IL-17/TGF-β比较 免疫耐受组患者外周血IL-6浓度、IL-17浓度、IL-6/TGF-β值和IL-17/TGF-β值均低于免疫排斥组,差异均有统计学意义(t=-2.688、-2.945,Z=-6.084、-6.124,均P<0.05);免疫耐受组外周血TGF-β浓度高于免疫排斥组,差异有统计学意义(t=7.620,P<0.001)(表3)。

2.1.2 外周血IL-6、TGF-β、IL-17与角膜移植排斥反应的相关性分析 Spearman秩相关性分析结果显示,PKP患者外周血IL-6浓度、IL-17浓度与角膜移植排斥反应均呈正相关(r_s=0.334、0.343,均P<0.05),外周血TGF-β浓度与角膜移植排斥反应呈负相关(r_s=-0.662,P<0.001)。

2.1.3 外周血角膜移植排斥反应影响因素的单因素二元Logistic回归分析 单因素二元Logistic回归分析结果显示,外周血IL-6浓度(OR=1.987,95%CI:1.157~3.415,P=0.013)、TGF-β浓度(OR=0.718,95%CI:0.621~0.829,P<0.001)、IL-17浓度(OR=1.518,95%CI:1.122~2.053,P=0.007)均是角膜移植排斥反应的影响因素(表4)。

2.1.4 外周血角膜移植排斥反应影响因素的多因素二元Logistic回归分析 多因素二元Logistic回归分析结果显示,外周血TGF-β是角膜移植排斥反应发生的独立保护因素(OR=0.715,95%CI:0.613~0.835,P<0.001),外周血TGF-β每增加1个单位,角膜移植排斥

表3 免疫耐受组与免疫排斥组外周血细胞因子浓度比较

Table 3 Comparison of cytokine concentrations in peripheral blood between immune tolerance group and immune rejection group

组别	例数	IL-6 ($\bar{x}\pm s$, ng/L)[a]	TGF-β ($\bar{x}\pm s$, ng/ml)[a]	IL-17 ($\bar{x}\pm s$, ng/L)[a]	IL-6/TGF-β [$M(Q_1,Q_3)$, $\times10^{-3}$][b]	IL-17/TGF-β [$M(Q_1,Q_3)$, $\times10^{-3}$][b]
免疫耐受组	42	8.973±0.954	17.933±5.625	8.567±1.396	0.523(0.399,0.712)	0.491(0.352,0.680)
免疫排斥组	36	9.529±0.856	8.794±4.846	9.643±1.825	1.319(0.775,1.854)	1.244(0.745,1.928)
t/Z值		-2.688	7.620	-2.945	-6.084	-6.124
P值		0.004	<0.001	0.002	<0.001	<0.001

注:(a:独立样本t检验;b:Mann-Whitney U检验) IL:白细胞介素;TGF:转化生长因子

Note: (a: Independent samples t-test; b: Mann-Whitney U test) IL: interleukin; TGF: transforming growth factor

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

反应发生的风险降低28.5%(表5)。

2.1.5 外周血TGF-β预测角膜移植排斥反应的效能分析　ROC曲线分析结果显示,外周血TGF-β预测角膜移植排斥反应的AUC为0.883(95%*CI*:0.810~0.957,*P*<0.001),最佳截断值为10.936 ng/ml,敏感度为72.2%,特异度为92.9%(图1)。

表4　外周血角膜移植排斥反应影响因素的单因素二元Logistic回归分析

Table 4　Univariate binary logistic regression analysis of factors influencing corneal graft rejection in peripheral blood

细胞因子	*B*值	Wald χ^2值	*P*值	*OR*	95%*CI*	
					下限	上限
IL-6(ng/L)	0.687	6.182	0.013	1.987	1.157	3.415
TGF-β(ng/ml)	−0.332	20.238	<0.001	0.718	0.621	0.829
IL-17(ng/L)	0.417	7.307	0.007	1.518	1.122	2.053

注:IL:白细胞介素;TGF:转化生长因子;*OR*:比值比;*CI*:置信区间

Note: IL: interleukin; TGF: transforming growth factor; *OR*: odds ratio; *CI*: confidence interval

表5　外周血角膜移植排斥反应影响因素的多因素二元Logistic回归分析

Table 5　Multivariate binary logistic regression analysis of factors influencing corneal graft rejection in peripheral blood

变量	*B*值	Wald χ^2值	*P*值	*OR*	95%*CI*	
					下限	上限
IL-6(ng/L)	0.673	2.580	0.108	1.961	0.862	4.458
TGF-β(ng/ml)	−0.335	18.103	<0.001	0.715	0.613	0.835
IL-17(ng/L)	0.182	0.577	0.447	1.199	0.750	1.917

注:IL:白细胞介素;TGF:转化生长因子;*OR*:比值比;*CI*:置信区间

Note: IL: interleukin; TGF: transforming growth factor; *OR*: odds ratio; *CI*: confidence interval

2.2 泪液IL-6、TGF-β、IL-17与角膜移植排斥反应的相关性及预测价值分析

2.2.1 2个组患者泪液IL-6、TGF-β、IL-17、IL-6/TGF-β和IL-17/TGF-β比较　免疫耐受组患者泪液IL-6浓度、IL-17浓度、IL-6/TGF-β值和IL-17/TGF-β值均低于免疫排斥组,差异均有统计学意义(t=−3.511、−3.555,Z=−3.618、−3.580,均*P*<0.001);免疫耐受组患者泪液TGF-β浓度高于免疫排斥组,差异有统计学意义(t=3.032,*P*<0.05)(表6)。

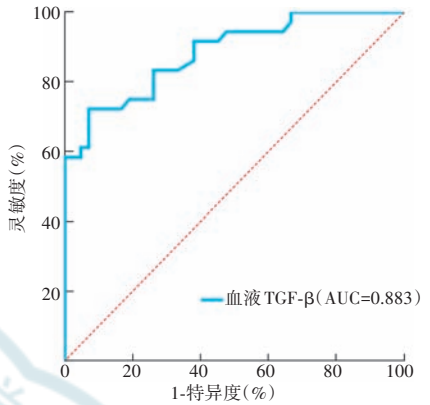


图1　外周血TGF-β预测角膜移植排斥反应的ROC曲线　TGF:转化生长因子;ROC:受试者工作特征;AUC:曲线下面积

Figure 1　ROC curve of peripheral blood TGF-β predicting corneal graft rejection　TGF: transforming growth factor; ROC: receiver operating characteristic; AUC: area under the curve

2.2.2 泪液IL-6、TGF-β、IL-17与角膜移植排斥反应的相关性分析　Spearman秩相关性分析结果显示,PKP患者泪液IL-6浓度、IL-17浓度与角膜移植排斥反应均呈正相关(r_s=0.518、0.538,均*P*<0.05),泪液TGF-β浓度与角膜移植排斥反应呈负相关(r_s=−0.502,*P*<0.05)。

2.2.3 泪液角膜移植排斥反应影响因素的单因素二元Logistic回归分析　单因素二元Logistic回归分析结果显示,泪液IL-6浓度(*OR*=1.154,95%*CI*:1.039~1.281,*P*=0.008)、TGF-β浓度(*OR*=0.971,95%*CI*:0.949~0.994,*P*=0.015)、IL-17浓度(*OR*=1.131,95%*CI*:1.032~1.240,*P*=0.009)均是角膜移植排斥反应发生的影响因素(表7)。

2.2.4 泪液角膜移植排斥反应影响因素的多因素二元Logistic回归分析　多因素二元Logistic回归分析结果显示,泪液TGF-β是角膜移植排斥反应发生的独立保护因素(*OR*=0.913,95%*CI*:0.839~0.994,*P*=0.035),

表6　免疫耐受组与免疫排斥组泪液细胞因子浓度比较

Table 6　Comparison of cytokine concentrations in tears between immune tolerance group and immune rejection group

组别	例数	IL-6 ($\bar{x}\pm s$, ng/L)[a]	TGF-β ($\bar{x}\pm s$, ng/ml)[a]	IL-17 ($\bar{x}\pm s$, ng/L)[a]	IL-6/TGF-β [$M(Q_1,Q_3)$, ×10^{-3}][b]	IL-17/TGF-β [$M(Q_1,Q_3)$, ×10^{-3}][b]
免疫耐受组	16	31.443±7.695	112.981±47.370	47.410±10.268	0.293(0.209,0.358)	0.407(0.333,0.550)
免疫排斥组	16	42.506±9.984	70.690±29.470	60.873±11.138	0.584(0.427,0.909)	0.857(0.623,1.403)
t/*Z*值		−3.511	3.032	−3.555	−3.618	−3.580
*P*值		<0.001	0.002	<0.001	<0.001	<0.001

注:(a:独立样本*t*检验;b:Mann-Whitney *U*检验)　IL:白细胞介素;TGF:转化生长因子

Note: (a: Independent samples *t*-test; b: Mann-Whitney *U* test)　IL: interleukin; TGF: transforming growth factor

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House　版权所有　违者必究

泪液TGF-β每增加1个单位，角膜移植排斥反应发生的风险降低8.7%（表8）。

表7 泪液角膜移植排斥反应影响因素的单因素二元Logistic回归分析

Table 7 Univariate binary logistic regression analysis of factors influencing corneal graft rejection in tears

细胞因子	*B*值	Wald χ^2值	*P*值	*OR*	95%*CI*	
					下限	上限
IL-6（ng/L）	0.143	7.115	0.008	1.154	1.039	1.281
TGF-β（ng/ml）	−0.029	5.872	0.015	0.971	0.949	0.994
IL-17（ng/L）	0.123	6.872	0.009	1.131	1.032	1.240

注：IL：白细胞介素；TGF：转化生长因子；*OR*：比值比；*CI*：置信区间

Note: IL: interleukin; TGF: transforming growth factor; *OR*: odds ratio; *CI*: confidence interval

表8 泪液角膜移植排斥反应影响因素的多因素二元Logistic回归分析

Table 8 Multivariate binary logistic regression analysis of factors influencing corneal graft rejection in tears

变量	*B*值	Wald χ^2值	*P*值	*OR*	95%*CI*	
					下限	上限
IL-6（ng/L）	0.356	3.649	0.056	1.428	0.991	2.058
TGF-β（ng/ml）	−0.091	4.440	0.035	0.913	0.839	0.994
IL-17（ng/L）	0.229	3.528	0.060	1.257	0.990	1.595

注：IL：白细胞介素；TGF：转化生长因子；*OR*：比值比；*CI*：置信区间

Note: IL: interleukin; TGF: transforming growth factor; *OR*: odds ratio; *CI*: confidence interval

2.2.5 泪液TGF-β预测角膜移植排斥反应的效能分析 ROC曲线分析结果显示，泪液TGF-β预测角膜移植排斥反应的AUC为0.789（95%*CI*：0.624~0.955，*P*=0.005），最佳截断值为103.59 ng/ml，敏感度为81.3%，特异度为68.7%（图2）。

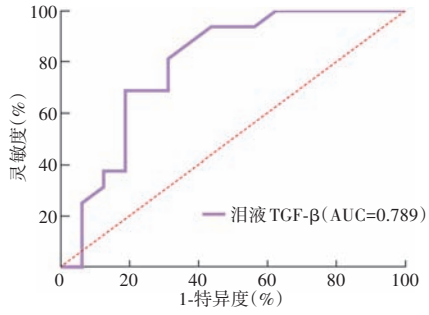


图2 泪液TGF-β预测角膜移植排斥反应的ROC曲线 TGF：转化生长因子；ROC：受试者工作特征；AUC：曲线下面积

Figure 2 ROC curve of TGF-β in tears predicting corneal graft rejection TGF: transforming growth factor; ROC: receiver operating characteristic; AUC: area under the curve

3 讨论

经过一个多世纪的技术发展与革新，角膜移植手术已发展成为全球范围内开展最为广泛、成功率最高的移植手术[5]。然而，移植术后免疫排斥反应仍是导致手术失败的主要原因，探究角膜移植排斥反应的发生机制并寻找早期预测排斥反应的安全有效方法，始终是角膜移植领域亟待解决的重要课题。近年来，随着对移植免疫生物学理解的不断深入，$CD4^+$T淋巴细胞亚群，特别是Th17细胞和Treg细胞之间的平衡，在角膜移植免疫调控中的核心作用已被广泛证实。本研究旨在探讨Th17/Treg细胞平衡的关键调控因子——IL-6、TGF-β和IL-17与角膜移植排斥反应的相关性及预测价值。

Th17/Treg细胞平衡在维持角膜移植免疫耐受中发挥着重要作用。Th17细胞是一种由$CD4^+$T淋巴细胞分化而来的效应性T细胞亚群，Th17细胞及其产生的IL-17等效应分子广泛参与自身免疫性疾病、感染性疾病以及移植排斥反应等疾病的免疫调节过程[6]。Wang等[7]研究发现，角膜移植排斥早期外周血和引流淋巴结中Th17细胞增多，表明Th17细胞的高表达可促进角膜移植排斥反应的发生。Treg细胞是一类具有免疫调节作用的T细胞，可通过抑制宿主对移植物的免疫反应，促进机体对移植物的耐受，从而减轻角膜移植排斥反应的发生，而Treg细胞的耗竭可加速角膜移植排斥反应的发生[8]。有研究表明，房水可以利用活性TGF-β将T淋巴细胞转化为Treg细胞，进而抑制反应性T细胞的增殖和活化，诱导免疫耐受[9]。本研究结果显示，免疫排斥组患者外周血和泪液中IL-6/TGF-β值高于免疫耐受组，提示IL-6/TGF-β比例可能通过调控免疫细胞的分化，在角膜移植排斥反应过程中发挥关键作用，IL-6/TGF-β平衡倾向IL-6时可促进角膜移植排斥反应发生，当该平衡倾向TGF-β时可抑制角膜移植排斥反应发生。IL-17和TGF-β分别是Th17细胞和Treg细胞分泌的关键细胞因子，IL-17/TGF-β的比值可在一定程度上反映Th17/Treg细胞的平衡状态。本研究发现角膜免疫排斥患者外周血和泪液中IL-17/TGF-β值高于免疫耐受组，提示Th17/Treg平衡向Th17方向偏移可能促进了角膜移植免疫排斥的发生，这一结果进一步证实了Th17/Treg失衡在角膜移植排斥反应中的重要作用。

IL-6是一种促炎细胞因子，主要通过作用于B淋巴细胞和T淋巴细胞，促进幼稚T淋巴细胞向Th17细胞分化，同时抑制其向Treg细胞分化，导致Th17/Treg

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

细胞比例失衡，促进自身免疫性疾病的发生[10]。采集角膜移植患者房水进行检测后发现，发生角膜移植排斥反应的患者IL-6含量显著升高，提示IL-6是排斥反应发生过程中眼内局部微环境产生的细胞因子[11]。IL-6可通过上调Treg细胞表面的血管内皮生长因子受体1，进而导致Treg细胞丧失免疫抑制功能，并促进γ干扰素的分泌，最终导致角膜移植排斥反应的发生[12]。Hua等[13]发现在同种异体角膜移植术后的小鼠腹腔注射IL-6中和抗体可延长角膜移植物存活时间，并且证明IL-6参与Treg细胞的病理转化，导致角膜免疫特权的丧失。Wu等[3]在同种异体角膜移植大鼠尾静脉注射2 mg托珠单抗（一种IL-6受体拮抗剂），结果显示，托珠单抗治疗可降低IL-17A、血管内皮生长因子表达，增加Treg细胞数量，减少Th17细胞数量，延长大鼠生存时间。本研究发现，PKP患者发生免疫排斥反应时外周血及泪液IL-6浓度升高，且IL-6水平与角膜移植排斥反应的发生呈正相关，提示IL-6在介导角膜移植免疫排斥的过程中发挥了重要作用。

TGF-β是一种免疫调节细胞因子，在维持Th17和Treg细胞平衡中发挥着重要作用，当TGF-β单独存在时，可促进Treg细胞分化以维持免疫耐受；当与IL-6等促炎细胞因子协同时，可促进Th17细胞分化，分泌促炎细胞因子，介导自身免疫和移植排斥[14]。Bystrov等[15]研究发现，高风险组角膜移植患者术前及术后泪液中TGF-β浓度显著低于低风险组，且呈持续下降趋势，他们认为发生角膜移植排斥的风险随TGF-β浓度降低而增加。一项PKP犬模型研究发现，与对照组相比，TGF-β滴眼液局部使用可抑制角膜移植免疫排斥反应，延长角膜移植物存活时间[16]。本研究发现，PKP患者发生免疫排斥反应时外周血及泪液中TGF-β浓度明显降低，且TGF-β浓度与角膜移植排斥反应的发生呈负相关，TGF-β浓度越低，角膜移植排斥反应发生的风险越高。ROC曲线显示，PKP患者外周血和泪液中TGF-β水平均可在一定程度上预测角膜移植排斥反应的发生，表明TGF-β对角膜移植排斥反应的发生具有一定的诊断价值。进一步比较发现，外周血TGF-β的预测效能（AUC=0.883，特异度92.9%）优于泪液TGF-β（AUC=0.789，特异度68.7%）。因此，外周血TGF-β水平可作为预测角膜移植排斥反应的更优潜在生物标志物。考虑原因可能有：（1）外周血反映系统性免疫状态，受眼局部因素干扰更小；（2）泪液样本易受眼表微环境、采集时间、采集方式（刺激/非刺激）、局部用药及患者配合程度等因素影响，变异性相对较大。结合本研究结果和既往文献报道，可以认为TGF-β的低表达与角膜移植排斥反应的发生密切相关，监测患者外周血及泪液TGF-β水平对于预测角膜移植排斥具有重要意义。由于本研究样本量有限且未设置独立验证集，未进行模型验证，所得结果仅作为探索性预测效能的参考，尚不能直接用于临床预测模型的推广，预测模型的构建未来需在大样本、多中心队列研究中进行验证。

IL-17是Th17细胞分泌的一种强促炎细胞因子，通过与IL-17受体结合，参与组织修复、免疫调节或介导炎症反应，在多种自身免疫性疾病和过敏性疾病的发病机制中起着关键作用[17]。Chi等[18]通过构建高风险兔角膜移植模型发现，在免疫排斥阶段，角膜植片及房水中均呈现IL-17信号通路的显著激活。杨洋等[19]通过小鼠同种异体角膜移植模型证实，使用雷帕霉素-深共晶溶剂滴眼液能够显著降低IL-17A的表达水平，同时延长角膜移植物存活时间，表明抑制IL-17A有助于减轻排斥反应。Yang等[20]认为IL-17可促进角膜新生血管和淋巴管的生成，角膜新生血管生成减少与IL-17表达的抑制密切相关。陈雪冬等[21]通过在同种异体角膜移植的小鼠腹腔注射IL-17中和性抗体，结果显示，IL-17治疗组小鼠角膜植片中炎性细胞浸润和促炎性细胞因子的分泌显著低于对照组，表明IL-17中和可通过抑制炎症反应，从而抑制角膜免疫排斥反应，促进移植物存活。Chen等[22]研究发现，发生角膜移植排斥反应的大鼠，其植片组织和引流淋巴结中Th17细胞显著增多，进一步将IL-17基因缺陷小鼠行同种异体角膜移植术，结果显示，与对照组相比，IL-17基因缺陷小鼠可通过减少促炎细胞因子的产生以及抑制早期淋巴器官中Th1细胞的募集或启动，延缓同种异体排斥反应的发展。本研究发现PKP患者发生免疫排斥反应时外周血及泪液中IL-17浓度高于免疫耐受组，且IL-17浓度与角膜移植排斥反应的发生呈正相关，提示IL-17的高表达与角膜移植免疫排斥反应的发生密切相关。

本研究存在一定的局限性：（1）纳入研究的泪液样本量相对偏少，未来将扩大样本量，开展多中心临床研究以提高结果的可靠性。（2）本研究采用横断面研究，无法明确细胞因子动态变化与排斥事件的因果关系。未来需通过前瞻性队列研究，建立规范的术后随访体系，通过定期采集患者样本进行动态监测，建立动态预测模型，以更准确全面地阐明细胞因子表达水平与角膜移植排斥反应发生和发展的相关性。（3）本研究未对排斥类型和排斥阶段进行分型，未来扩大样本量后可进一步探讨排斥亚型及阶段与细胞

中华医学会杂志社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究

因子水平的关系。

综上所述，角膜移植排斥反应与患者外周血和泪液中IL-6、IL-17水平呈正相关，与TGF-β水平呈负相关，IL-6、IL-17高表达促进角膜移植免疫排斥，而TGF-β高表达可促进角膜免疫耐受，PKP患者外周血和泪液IL-6、TGF-β、IL-17浓度是角膜移植排斥反应的重要影响因素，而外周血及泪液TGF-β是角膜移植排斥反应发生的独立保护因素，对角膜移植排斥反应的发生具有较高的预测价值，且外周血TGF-β的预测价值优于泪液，是预测角膜移植排斥反应更优的潜在生物标志物。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 张永倩：研究设计、研究实施、收集数据、分析数据、起草及修改文章；何丽芬、王九三：文章审阅及修改；谢勇贤：收集数据；曹倩：研究选题、实施研究、文章修改；李兰：研究设计、文章审阅及定稿

参考文献

[1] Keye P, Lapp T, Böhringer D, et al. Clinical course of different types of immune reactions following keratoplasty[J]. Klin Monbl Augenheilkd, 2023, 240(3): 288-294. DOI: 10.1055/a-1554-5362.

[2] Cao Q, Li Y, Li Y, et al. miR-151-5p alleviates corneal allograft rejection by activating PI3K/AKT signaling pathway and balancing Th17/Treg after corneal transplantation via targeting IL-2Rα[J]. Ann Transl Med, 2021, 9(18): 1410. DOI: 10.21037/atm-21-2054.

[3] Wu XS, Lu XL, Wu J, et al. Tocilizumab promotes corneal allograft survival in rats by modulating Treg-Th17 balance[J]. Int J Ophthalmol, 2019, 12(12): 1823-1831. DOI: 10.18240/ijo.2019.12.02.

[4] 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.

[5] Singh R, Gupta N, Vanathi M, et al. Corneal transplantation in the modern era[J]. Indian J Med Res, 2019, 150(1): 7-22. DOI: 10.4103/ijmr.IJMR_141_19.

[6] Ruiz de Morales J, Puig L, Daudén E, et al. Critical role of interleukin (IL)-17 in inflammatory and immune disorders: an updated review of the evidence focusing in controversies[J]. Autoimmun Rev, 2020, 19(1): 102429. DOI: 10.1016/j.autrev.2019.102429.

[7] Wang X, Wang W, Xu J, et al. All-trans retinoid acid promotes allogeneic corneal graft survival in mice by regulating Treg-Th17 balance in the presence of TGF-β[J]. BMC Immunol, 2015, 16: 17. DOI: 10.1186/s12865-015-0082-3.

[8] 阿婷曦, 邵春益, 傅瑶. 调节性T细胞在眼表疾病中作用的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2022, 42(8): 1145-1150. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2022.08.021.
A TX, Shao CY, Fu Y. Research progress on the role of regulatory T cells in ocular surface diseases[J]. J Shanghai Jiaotong Univ (Medical Science), 2022, 42(8): 1145-1150. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2022.08.021.

[9] Moreau JM, Velegraki M, Bolyard C, et al. Transforming growth factor-β1 in regulatory T cell biology[J]. Sci Immunol, 2022, 7(69): eabi4613. DOI: 10.1126/sciimmunol.abi4613.

[10] Friedmann J, Schuster A, Reichelt-Wurm S, et al. Serum IL-6 predicts risk of kidney transplant failure independently of immunological risk[J]. Transpl Immunol, 2024, 84: 102043. DOI: 10.1016/j.trim.2024.102043.

[11] Funding M, Vorum H, Nexø E, et al. Soluble CD163 and interleukin-6 are increased in aqueous humour from patients with endothelial rejection of corneal grafts[J]. Acta Ophthalmol Scand, 2005, 83(2): 234-239. DOI: 10.1111/j.1600-0420.2005.00397.x.

[12] Lee S, Narimatsu A, Heydarian N, et al. IL-6 amplifies corneal transplant alloimmunity by inducing dysfunctional IFN-γ-secreting Treg through the VEGFA-VEGFR1 axis[J]. Transpl Immunol, 2025, 93: 102284. DOI: 10.1016/j.trim.2025.102284.

[13] Hua J, Inomata T, Chen Y, et al. Pathological conversion of regulatory T cells is associated with loss of allotolerance[J]. Sci Rep, 2018, 8(1): 7059. DOI: 10.1038/s41598-018-25384-x.

[14] Wang J, Zhao X, Wan YY. Intricacies of TGF-β signaling in Treg and Th17 cell biology[J]. Cell Mol Immunol, 2023, 20(9): 1002-1022. DOI: 10.1038/s41423-023-01036-7.

[15] Bystrov A, Kuznetzov AA. Dynamics of VEGF and TGF-β indices in lacrimal fluid as a predictor of corneal transplant rejection[J]. Russ J Immunol, 2024, 28(1): 103-108. DOI: 10.46235/1028-7221-16977-DOV.

[16] 张志鹏, 胥辉豪, 李婧, 等. TGF-β1滴眼对犬穿透性角膜移植术后免疫排斥反应的试验[J]. 中国兽医杂志, 2015, 51(2): 63-65. DOI: 10.3969/j.issn.0529-6005.2015.02.023.
Zhang ZP, Xu HH, Li J, et al. Effects of TGF-β1 eye drops on immunological rejection after penetrating keratoplasty in Canine[J]. Chin J Vet Med, 2015, 51(2): 63-65. DOI: 10.3969/j. issn. 0529-6005. 2015.02.023.

[17] 王岚, 李妍, 孙子雯, 等. IL-17在眼部疾病中的作用研究进展[J]. 国际眼科杂志, 2021, 21(8): 1412-1416. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.8.21.
Wang L, Li Y, Sun ZW, et al. Research progress on effect of IL-17 in ocular diseases[J]. Int Eye Sci, 2021, 21(8): 1412-1416. DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2021.8.21.

[18] Chi H, Wei C, Ma L, et al. The ocular immunological alterations in the process of high-risk corneal transplantation rejection[J]. Exp Eye Res, 2024, 245: 109971. DOI: 10.1016/j.exer.2024.109971.

[19] 杨洋, 黄慈欣, 曾繁星, 等. 雷帕霉素-深共晶溶剂滴眼液对小鼠同种异体角膜移植排斥反应的抑制作用及其机制[J]. 精准医学杂志, 2024, 39(2): 101-107. DOI: 10.13362/j.jpmed.202402002.
Yang Y, Huang CX, Zeng FX, et al. Inhibitory effect of rapamycin-deep eutectic solvent eye drops on corneal allograft rejection in mice and its mechanism[J]. J Precis Med, 2024, 39(2): 101-107. DOI: 10.13362/j.jpmed.202402002.

[20] Yang J, Feng S, Yi G, et al. Inhibition of RelA expression via RNA interference induces immune tolerance in a rat keratoplasty model[J]. Mol Immunol, 2016, 73: 88-97. DOI: 10.1016/j.molimm.2016.03.014.

[21] 陈雪冬, 赵士勇, 唐先玲, 等. 白细胞介素17中和性抗体对角膜移植排斥反应的抑制作用[J]. 中华实验眼科杂志, 2012, 30(10): 897-901. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2012.10.009.
Chen XD, Zhao SY, Tang XL, et al. Inhibitory effect of neutralizing interleukin-17 antibody on corneal allograft rejection[J]. Chin J Exp Ophthalmol, 2012, 30(10): 897-901. DOI: 10.3760/cma. j. issn. 2095-0160.2012.10.009.

[22] Chen H, Wang W, Xie H, et al. A pathogenic role of IL-17 at the early stage of corneal allograft rejection[J]. Transpl Immunol, 2009, 21(3): 155-161. DOI: 10.1016/j.trim.2009.03.006.

（收稿日期：2026-03-06 修回日期：2026-09-15）

（本文编辑：施晓萌 骆世平）

中華醫學會雜誌社 Chinese Medical Association Publishing House 版权所有 违者必究