

白细胞介素 10在心脏移植免疫治疗中的研究现状*

李伟栋 综述 倪一鸣 审校

(卫生部多器官联合移植重点实验室, 浙江大学医学院附属第一医院心胸外科, 浙江 杭州 310003)

Immune Therapy of Interleukin-10 in Heart Transplantation

LI Weidong NI Yiming

(The Key Lab of Multi-Organ Combined Transplantation of Health Ministry, Department of Cardiothoracic Surgery, The First Affiliated Hospital Medical School of Zhejiang University, Hangzhou 310003, China)

文章编号: 1004-3934(2005)05-0541-04

中图分类号: R392.1

文献标识码: A

摘要: 白细胞介素 10 是一种具有多种生物学功能的细胞因子, 它能通过多种途径来抑制或减轻器官移植排斥反应的程度, 从而延长移植物的存活时间。因此, 白细胞介素 10 在心脏移植免疫治疗中有重要的应用前景。现就白细胞介素 10 在心脏移植体中的表达和意义、免疫抑制作用机制及其在心脏移植中应用研究的现状等作一综述。

关键词: 白细胞介素 10 心脏移植; 排斥反应; 免疫抑制; 免疫治疗

Abstract: Interleukin-10 (IL-10) is one cytokine with many biological functions. It can suppress or decrease the organ transplantation rejection through several ways so as to increase the survival time of allograft. It may be important in the immune therapy of heart transplantation. In this review, we summarize the expression and significance of IL-10 in the heart allograft, its mechanism of immunosuppression and application research progress of IL-10 in the heart transplantation.

Key words: Interleukin-10; Heart transplantation; Rejection; Immunosuppression; Immune therapy

终末期心脏病患者行常规治疗无效时, 采用心脏移植是重要的治疗办法之一。经过各国学者长期的努力, 心脏移植术已得到了很大的发展。但移植后的排斥反应仍严重影响了移植心脏的存活时间。如何缓解排斥反应, 延长移植心脏存活时间已成了心脏移植领域的研究重点。白细胞介素 10 (IL-10) 作为细胞因子网络中的重要一员, 在抑制器官移植排斥反应中起到了重要的作用, 本文就 IL-10 细胞因子在心脏移植免疫治疗中的作用作一综述。

1 白细胞介素 10 的基本特性及主要作用

1989年, Fiorentino等发现 2 型辅助性 T 细胞 (Th₂ 细胞) 能分泌一种能抑制 1 型辅助性 T 细胞 (Th₁ 细胞) 功能的未知因子, 称为细胞因子合成抑制因子。Moore 等进一步发现这种因子与 EB 病毒中 BCRF1 基因编码的蛋白质有广泛同源性, 且不同于其它已知的序列, 能抑制 Th₁ 细胞合成细胞因子, 命名为 IL-10。它是一种 35~40 kD ($\approx 3.5 \sim 4.0 \times 10^4$) 的酸性蛋白, 由两个同源的亚基组成, 是一种抑制性淋巴因子, 主要由 Th₂ 细胞分泌。现已证实, Th₁ 细胞、正常 B 细胞或 B 淋巴瘤细胞、单核巨噬细胞、活化的肥大细胞、角化细胞等也可分泌 IL-10。IL-10 通过与细胞膜上的 IL-10 受体 (IL-10R) 结合起作用, 人和小鼠的 IL-10R 信

使核糖核酸 (mRNA) 可在多种组织和细胞中表达。

IL-10 具有很强的抗炎症作用, 它可以抑制诸多炎症因子如 IL-2、IL-1 β 、干扰素 γ (IFN γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF α) 等的合成及其活性。同时, 它又对抗炎症物质如 IL-1R 具有正向调节作用。目前认为, IL-10 在许多病理情况下可能是一种有效的抗炎症物质。

IL-10 还可抑制 T 细胞亚群分泌的细胞因子, 因此 IL-10 有望治疗由各种 T 细胞介导的自身免疫性疾病, 如 1 型糖尿病和多发性硬化症。另外, IL-10 在肿瘤的生长、转移中也起到了一定的作用, 它能辅助肿瘤细胞产生免疫逃避, 因此 IL-10 可能对肿瘤的检测和治疗也有帮助。

而在器官移植领域, 越来越多的研究表明, IL-10 能通过多种途径来抑制或减轻排斥反应, 从而延长移植物的存活时间。在肝脏移植、肾脏移植及心脏移植中均有很多相关的研究和报道。以下介绍 IL-10 在心脏移植免疫治疗中的作用。

2 白细胞介素 10 在心脏移植体中的表达及意义

在心脏移植实验中, 很多的研究者均发现了移植心脏存活的时间与内源性 IL-10 表达的量存在一定的关系。X^[1] 等在小鼠心脏移植模型中, 检测了小鼠心脏移植后 IL-10 的表达情况, 结果显示, 长期存活的移

植心脏, IL-10的表达量明显增多,而在急性期就被排斥的移植心脏中,几乎检测不到 IL-10。Awad^[3]在人体心脏移植中也发现了类似的结果,他在对 66名心脏移植受体的基因多态性研究中发现, IL-10基因水平与患者发生移植心脏排斥反应的易感性成一负相关联系。低水平的 IL-10基因患者大多数产生了很严重的排斥反应,而相反,高水平的 IL-10基因患者产生的排斥反应较轻。而 Mulligan^[3]等在心脏移植模型中发现使用抗 IL-10抗体能明显加速心脏排斥反应。这说明在心脏移植排斥反应中,一定时期内的免疫抑制与 IL-10的高表达存在着密切的正相关。而在一些直接或间接抑制免疫效应细胞从而达到减轻排斥反应的实验中,也发现了 IL-10的高表达。在用 IL-2受体 (CD25)单克隆抗体抑制了免疫排斥反应的心脏移植模型中,研究者发现 IL-10的表达量比对照空白组要高得多^[4],这也间接地说明了 IL-10对于移植心脏具有免疫保护的作用。

另外,一些学者使用外源性 IL-10也发现了类似的结果。Zuo^[5]等用一种腺病毒介导 IL-10基因进入大鼠移植心脏中,移植心脏局部 IL-10的表达量比对照组明显增多,移植心脏平均存活时间从 10.5 d 增加到了 19.6 d。通过外源性应用提高移植心脏 IL-10的表达,移植心脏存活时间得到了明显的延长。相反,降低体内 IL-10的表达量则得到了不同的结果。Rajsanek^[6]等将小鼠心脏移植入 IL-10基因敲除型和野生型小鼠受体中,通过移植心脏病理观察发现,基因敲除型小鼠移植心的白细胞浸润量及血管栓塞情况比对照野生组严重得多,移植心存活时间也明显减少。这也从反方面说明了 IL-10对移植体排斥反应起到了一种明显的抑制作用。

3 白细胞介素 10抑制移植排斥反应的作用机制

3.1 抑制抗原递呈细胞的抗原递呈作用

Li^[7]等在小鼠 IL-10转基因心脏移植模型中,通过标记筛选等方法,将移植心浸润细胞 (GIC)分离出来,去除了 CD4⁺细胞和其他的几种细胞,只保留来自供体和受体的抗原递呈细胞 (APC),这些细胞经培养后作为刺激体去刺激混合性淋巴细胞反应。他们发现,在 IL-10转基因的小鼠中分离出的 GIC不能引起白细胞的增殖反应。而进一步的研究表明,这些细胞的无刺激性是因为来自供体的 APC的递呈作用被抑制所致,来自受体的 APC功能无明显的改变。因此可以看出, IL-10的高表达破坏了供体来源的 APC功能,这些 APC与受体来源的正常的 APC相混合后,也影响了受体来源 APC的正常功能。IL-10抑制 APC的机制可能有: (1)抑制活化的 T细胞、NK细胞产生某些

APC的活化^[8]。(2)直接抑制 APC细胞表面 MHC II类分子的表达, Takayama^[9]发现骨髓来源的树突状细胞转入 IL-10基因后,其表面的 MHC II类分子表达明显减少,诱导 T细胞增生的能力也明显较少。(3)抑制 APC表面辅助刺激因子的表达, Wang^[10]等采用体外培养获得人外周血树突状细胞 (DC),加入不同剂量的 IL-10后测定 DC表面 HLA-DR CD80的表达,他们发现, IL-10能剂量依赖性地抑制这两种分子的表达,从而影响 DC的抗原递呈能力。

3.2 抑制 Th1细胞活性,调节 Th1/Th2细胞因子网络

Th1和 Th2细胞分泌不同的细胞因子,介导不同的免疫反应。Th1细胞因子 (IL-2、IFN- γ 等)可以激活细胞毒性 T细胞 (CTL)、自然杀伤细胞 (NK)和巨噬细胞来促进细胞免疫。Th2细胞因子 (IL-4、IL-10等)则促进 B细胞分泌特异性抗体,介导体液免疫^[11]。心脏移植反应中最常见的就是急性排斥反应,它是一种细胞免疫过程,因此, Th1细胞在移植免疫中发挥了重大作用。IL-10调节 Th1/Th2细胞因子网络,下调了 Th1类细胞表达 Th1类细胞因子,并拮抗 Th1类细胞因子的作用。Yoo^[12]等发现在未做处理的对照组中, IL-2、IFN- γ 和 TNF- α 细胞因子的表达在心脏移植术后两天就明显升高,并维持较长的时间。而在 IL-10转基因处理组中,这些 Th1类细胞因子的表达量在术后两天明显降低,但在术后 9 d IL-10水平逐步下降后,这些 Th1类细胞因子的表达量上升明显,同时伴有排斥反应的加重。IL-10的水平和 Th1类细胞因子表达的负相关充分说明了 IL-10对 Th1细胞具有明显的抑制作用。通过 Th1/Th2网络的偏离,抑制了细胞免疫的破坏作用,延长了移植心的存活时间。

3.3 减少移植物浸润淋巴细胞的数量

IL-10能诱导 T细胞的调亡,减少移植物浸润淋巴细胞数量,从而直接减轻细胞免疫的破坏作用。Tung^[13]等观察了 IL-10转基因处理后供心淋巴细胞的浸润情况,他们发现,在移植后 4~5 d CD4⁺和 CD8⁺亚型淋巴细胞的量比对照组分别减少了 7.1倍和 6倍。而此时调亡相关因子 Fas和 Bax的量比对照组分别增加了 10倍和 30倍,相应的调亡信号传导系 caspase-8和 caspase-9也有明显的增加,而阻断调亡信号传导后,则可以几乎完全地抑制这个过程。而 Fischbein^[14]等也发现 IL-10能通过减少移植心浸润淋巴细胞的量来抑制慢性排斥反应的程度。

3.4 抑制移植物浸润 T淋巴细胞的活性

3.4.1 对 CTL的抑制作用:活化的 CTL的主要作用是作为免疫效应分子介导移植细胞的调亡,即细胞

用。Groux^[15]等的研究表明将 CTL 细胞和同源单核细胞及 IL-10 共同孵化 10 d 会导致对抗原的无应答, 而将抗 CD3 抗体激活后的 CTL 与 IL-10 共同孵化并不会引起 CTL 对抗原的无应答, 这说明了 IL-10 对 CTL 的抑制作用并不是直接作用于 CTL, 而是通过抑制 APC 的抗原呈递功能实现的。IL-10 抑制了 Th1 细胞和单核巨噬细胞产生的细胞因子, 从而抑制 CTL 前驱细胞的活化和 CTL 的分化, 使 CTL 的反应性下降。

3.4.2 对 NK 细胞的抑制作用: NK 细胞具有广谱杀伤细胞作用。在 NK 细胞上有 IL-2 受体的结构, 因此经常表现为对 IL-2 的高敏感性。NK 细胞本身也会分泌 IL-2、 $\text{INF-}\gamma$ 等 Th1 类细胞因子来提高自己的细胞杀伤活性。IL-10 可以抑制 Th1 类细胞因子的产生, 使 Th1/Th2 细胞因子网络偏向 Th2 类^[16], 从而削弱了 NK 细胞的抗移植体活性。

3.5 抑制体液免疫反应

在移植排斥过程中, 除了细胞免疫引起移植物的损伤之外, 体液免疫中抗体的产生也会影响移植体的存活, 特别是 IgG 能在急性排斥反应中协同 CTL 等淋巴细胞对移植体产生一定的破坏作用。DeBruyne^[17]等的研究发现, 通过脂质体介导 IL-10 基因进入移植心中, 供心的存活时间明显延长, 而 IgG、IgM 等抗体的量明显减少。IL-10 通过抑制抗体的产生从而减轻了移植体排斥反应。

4 白细胞介素 10 在心脏移植中应用研究的现状

众多的研究表明了 IL-10 在心脏移植免疫治疗中起到了重要的作用。目前对外源性 IL-10 的研究主要在动物试验中进行, 其主要方法是通过转基因技术将 IL-10 基因转入心肌细胞中进行表达。转基因治疗包括 3 个环节: (1) 合适的载体, 包括病毒、质粒等 (2) 有效的载体转导方法, 有直接注射入移植心脏心尖部、冠状动脉灌注法等 (3) 目的基因 IL-10。目前大多数针对目的基因 IL-10 的动物试验是以腺病毒作为载体的, 其转染率较高, 但其不具有整合性, 基因只能暂时表达。另外, 也有一部分试验采用改装后的质粒载体, 在质粒中加入一些具有病毒性质的成分, 从而提高转染率。所采用的基因转导方法多为冠状动脉灌注, 能使基因载体较均匀地分布到心脏各组织, 提高了对载体的摄取率。通过这些载体将 IL-10 基因转入心脏细胞后, 表达出一定量的 IL-10 从而通过上述的一些作用机制减轻或抑制心脏移植免疫排斥反应, 达到延长生存时间的目的。一般使用腺病毒或改装过的质粒作为载体将 IL-10 基因转入移植心脏后, 移植体存活的时间可以延长 2~3 倍左右。

量不高、表达时间短等问题。而有学者在试验中发现 IL-10 的免疫抑制作用与使用的时间和剂量有关, 移植前应用 IL-10 能增加移植心存活时间, 而在移植后应用 IL-10 则无作用, 高剂量时甚至反而加速了移植排斥^[18]。Jiang^[9]等在用环孢素 A (CsA) 治疗已经发生的排斥反应时发现, 内源性 IL-10 的表达反而被抑制。因此, 如何应用好内源性和外源性 IL-10 还有待深入研究。另外, 虽然通过转基因方法可以延长移植心的存活时间, 但就目前研究情况来看, 其存活时间还很难满足临床应用的要求。这些问题均有待于在今后的研究中加以解决。

5 白细胞介素 10 在抗心脏移植排斥反应治疗中的前景

移植排斥反应一直是心脏移植中较难解决的问题。在正确配型的基础上, 目前临床上预防排斥的政策主要为应用 CsA 他克莫司 (FK506) 等系统性免疫抑制剂, 该疗法除了降低了机体的免疫力外, 抗排斥药物长期应用所带来的不良反应也是一项不容忽视的问题。因此, 寻找更好的预防排斥的方法对于更好地开展心脏移植具有非常重要的作用。而越来越多的研究表明, IL-10 在心脏移植免疫治疗中起到了重要作用, 这为解决心脏移植后的排斥反应又增加了新的方法和途径。有学者在大鼠心脏移植试验中发现 CsA 联合 IL-10 外源性应用可以取得很理想的效果, 移植体的存活时间比单纯应用 CsA 或 IL-10 要明显延长, 这说明了 IL-10 可能具有协同环孢素 A 达到免疫抑制的作用^[19]。因此今后有望发展出一种包含 IL-10 的联合免疫抑制方案, 达到有效克服移植体排斥反应的目的。

[参考文献]

- [1] Xia D, Sanders A, Shah M, et al. Real time polymerase chain reaction analysis reveals an evolution of cytokine mRNA production in allograft acceptance [J]. *Transplantation* 2001; 72(5): 907-914.
- [2] Awad MR, Weber S, Boyle G, et al. The effect of cytokine gene polymorphisms on pediatric heart allograft outcome [J]. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20(6): 625-630.
- [3] Mulligan MS, Warner RL, McDuffie JE, et al. Regulatory role of Th2 cytokines IL-10 and IL-4 in cardiac allograft rejection [J]. *Exp Mol Pathol* 2000; 69(1): 1-9.
- [4] Xia J, Jiang X, Huang Y, et al. Anti-CD25 monoclonal antibody modulates cytokine expression and prolongs allograft survival in rats cardiac transplantation [J]. *Chin Med J* 2003; 116(3): 432-435.
- [5] Zuo Z, Wang C, Carpenter D, et al. Propagation of allograft survival with viral IL-10 transfection in a highly histoincompatible model of rat heart allograft rejection [J]. *Transplantation* 2001; 71(5): 686-691.
- [6] Rajsanen SA, Gyllenberg JT, Russell M. Leukocyte-suppressing influences of interleukin (IL-10) in cardiac allograft islets from IL-10 knock-out mice [J]. *Am J Pathol* 1998; 153(5): 1491-1500.
- [7] Qin LH, Ding YZ, Tahara H, et al. Viral IL-10-induced immunosuppression requires Th2 cytokines and impairs APC function within the allograft [J]. *J Immunol* 2001; 166(4): 2385-2393.
- [8] Shama S, Stojana M, Lin Y, et al. T cell-derived IL-10 promotes lung cancer

- [9] Takayama T, Tahara H, Thomson AW. Differential effects of myeloid dendritic cells retrovirally transduced to express mammalian or viral interleukin-10 on cytotoxic T lymphocyte and natural killer cell functions and resistance to tumor growth[J]. Transplantation 2001 71(9): 1334-1340
- [10] Wang SJ, Yao K, Xie F, et al. Effects of tripterygium wilfordii saponins and interleukin-10 on dendritic cells from human peripheral blood[J]. Acta Pharmacol Sin 2001 22(8): 721-724
- [11] Wang H, Hosajawa KA, Min W, et al. Cytokines regulate the pattern of rejection and susceptibility to cyclosporine therapy in different mouse recipient strains after cardiac allografts[J]. J Immunol 2003 171(7): 3823-3836
- [12] Yoo SH, Hillel L, Guan-gen C, et al. Localized immunosuppression in the cardiac allograft induced by a new liposome-mediated IL-10 gene therapy[J]. J Heart Lung Transplant 2002 21(11): 1188-1200.
- [13] Tung TC, Oshima K, Cui G, et al. Dual up-regulation of Fas and Bax promotes alloreactive T cell apoptosis in IL-10 gene targeting of cardiac allografts[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol 2003 285(3): 964-973
- [14] Fischbein MP, Yun J, Laks H, et al. Regulated interleukin-10 expression prevents chronic rejection of transplanted hearts[J]. J Thorac Cardiovasc Surg 2003 126(1): 216-223
- [15] Groux H, Blier M, de Vries JE, et al. Inhibitory and stimulatory effects of IL-10 on human CD8+ T cells[J]. J Immunol 1998 160(7): 3188-3193
- [16] Biesiada L, Krasinski G, Tchorezowski H. Current opinions on immunological processes in rheumatoid arthritis during pregnancy[J]. Pol Merkuruz Lek 2001 10(60): 477-479
- [17] DeBruyne LA, Li K, Chan SY, et al. Lipid-mediated gene transfer of viral IL-10 prolongs vascularized cardiac allograft survival by inhibiting donor-specific cellular and humoral immune responses[J]. Gene Ther 1998 5(8): 1079-1087
- [18] Li W, Fu F, Lu L, et al. Differential effects of exogenous interleukin-10 on cardiac allograft survival: inhibition of rejection by recipient pretreatment reflects impaired host accessory cell function[J]. Transplantation 1999 68(9): 1402-1409
- [19] Jiang H, Wynn C, Pan F, et al. Tacrolimus and cyclosporine differ in their capacity to overcome ongoing allograft rejection as a result of their differential abilities to inhibit interleukin-10 production[J]. Transplantation 2002 73(11): 1808-1817

收稿日期: 2004-03-16 修回日期: 2005-03-09

(本文编辑: 益西巴珍)

血管迷走性晕厥的研究进展

杨淑莲¹ 综述 李醒三² 审校

(1. 广西柳州医学高等专科学校第一附属医院, 广西 柳州 545002; 2. 广西医科大学第一附属医院, 广西南宁 530021)

Advances in Research of Vasovagal Syncope

YANG Shu-lian, LI Xing-san

(1. The First Affiliated Hospital of Lüzhou Medical College in Guangxi, Lüzhou 545002 China; 2. The First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University Nanning 530021 China)

文章编号: 1004-3934(2005)05-0544-03

中图分类号: R544.2

文献标识码: A

摘要: 血管迷走性晕厥(VVS)是一种常见的临床晕厥综合征。由于其病理生理的特殊性和复杂性,给VVS的诊治带来了较大的困难,是近年来国内外学者研究的热点。现对VVS的发病机理和诊治方法的研究进展作一综述。

关键词: 晕厥; 血管; 血管迷走性晕厥; 综合征

Abstract: Vasovagal syncope(VVS) is a frequent clinical psychia syndrome. Owing to its particularity and complicity of pathology and physiology, their diagnosis and therapy in patients with VVS were difficult. scholars both home and abroad investigated more in recent years. Here we summarize the advances in research of VVS in pathogenesis and treatment.

Key words: Psychia; Blood vessel; Vasovagal syncope; Syndrome

血管迷走性晕厥(vasovagal syncope, VVS)是自主神经系统功能不良所致临床晕厥综合征,是诸多晕厥中既特殊又常见的一种类型。据统计,约有40%以上的晕厥事件属于VVS。其病理生理机制复杂多样,故VVS的诊断、治疗相对困难,近年国内外学者做了大量的研究,就其触发机制、诊断及干预手段等方面进行深入探讨,现作一简要综述。

1 机制

1.1 体位直立正常反应

人在平卧转成直立位时,静脉回流减少,心室充盈量

心室后下壁心脏机械受体压力感受器(或C纤维)的激活,反射性地增加了交感输出,使心跳加快,周围血管阻力增高,舒张血压升高,收缩血压轻度升高。

1.2 Bezold-Jarisch反射机制

在VVS患者中,直立体位初起时回心血量减少,心室充盈下降。但是引起心室强烈收缩,造成空排效应,激活左室后下壁C纤维,传递冲动到脑干迷走中枢,模拟血压升高的交感冲动,激发迷走神经活性加强,使心率减慢,周围血管阻力下降,血压降低,重者意识障碍,晕厥发作。