

·综述·

DOI: 10.16605/j.cnki.1007-7847.2020.04.009

耐受性树突状细胞的研究进展

孙庐云^a, 丁喆^b, 陈鹏^a, 刘锋^a, 宝福凯^{b*}, 胡明道^{a*}

(昆明医科大学 a. 第二临床学院; b. 病原生物学与免疫学系, 中国云南 昆明 650500)

摘要: 耐受性树突状细胞(tolerogenic dendritic cell, tolDC)在器官移植和自体免疫性疾病中对免疫耐受调节至关重要。与免疫抑制剂相比, tolDC 用于治疗移植后排斥反应的副作用较低。此外, tolDC 可通过多种途径培养生成, 且不同的培养方式具有独特功效。目前, tolDC 作为一种诱导器官移植耐受的辅助治疗已在临床试验中广泛应用。本文就 tolDC 诱导免疫耐受、tolDC 的体外诱导培养及其 miRNA 调控机制和应用进行综述并提出相关展望, 以期应用 tolDC 治疗减轻移植后排斥反应的研究提供新思路。

关键词: 耐受性树突状细胞(tolDC); 免疫耐受; 移植免疫; 移植排斥; miRNA 调控机制

中图分类号: Q25, R392.4

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2020)04-0314-07

Research Progress on Tolerogenic Dendritic Cells

SUN Lu-yun^a, DING Zhe^b, CHEN Peng^a, LIU Feng^a, BAO Fu-kai^{b*}, HU Ming-dao^{a*}

(a. The Second Clinical College; b. Department of Pathogen Biology and Immunology, Kunming Medical University, Kunming 650500, Yunnan, China)

Abstract: Tolerogenic dendritic cells (tolDCs) are critical for regulation of immune tolerance in organ transplantation and autoimmune diseases. Compared with immunosuppressants, the side effects of tolDCs for treatment after transplantation are fewer. In addition, tolDCs can be cultivated by a variety of ways and different culture methods have different efficacies. At present, tolDCs have been widely used in clinical trials as an adjuvant therapy to induce organ transplant tolerance. Herein, the immune tolerance induced by tolDCs, culture methods of tolDCs *in vitro*, miRNAs regulatory mechanism and application of tolDCs were reviewed, and related research prospects were put forward, with the hope of providing guidance for tolDCs therapy to reduce transplantation rejection.

Key words: tolerogenic dendritic cells (tolDCs); immune tolerance; transplantation immunity; transplantation rejection; regulatory mechanisms of miRNAs

(*Life Science Research*, 2020, 24(4): 314~320)

树突状细胞(dendritic cell, DC)是机体内最强的抗原呈递细胞, 在激活适应性免疫和促进免疫耐受过程中均发挥着重要作用, 其中能够诱导免疫耐受的 DC 群被定义为耐受性树突状细胞(tolerogenic dendritic cell, tolDC)。tolDC 可诱导移

植后同种异体移植物的持久免疫耐受性, 抑制移植排斥反应与自身免疫疾病的发展^[1]。实施器官移植术后的病人需终身服用免疫抑制剂, 但长期服用免疫抑制剂易产生耐药性和药毒性, 还可能引起机体更严重的排斥反应^[2]。机体的免疫耐受

收稿日期: 2019-11-18; 修回日期: 2020-02-21

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81860124); 云南省应用基础研究计划项目(201701UH00599)

作者简介: 孙庐云(1987—), 男, 云南昆明人, 硕士研究生; 孙庐云和丁喆对本文的贡献相同, 为本文共同第一作者; *通信作者: 宝福凯(1962—), 男, 云南腾冲人, 博士, 昆明医科大学教授, 博士生导师, 主要从事热带传染病和免疫学的研究, Tel: 0871-65922857, E-mail: baofukai@kmmu.edu.cn; 胡明道(1963—), 男, 云南宣威人, 博士, 昆明医科大学第二附属医院肝胆外科一病区主任医师, 博士生导师, 主要从事肝胆胰外科疾病基础和临床研究, Tel: 0871-65922857, E-mail: humdao@163.com。

性决定了受体对供体器官的接受程度。因此,提高受体免疫耐受性可显著降低移植术后的排斥反应及相关并发症,增加供体器官存活率,提高患者的生活质量。目前,多项研究揭示了 tolDC 应用于移植和自身免疫性疾病治疗的机制,这对减少移植排斥后的感染和其他病变的发生具有重要意义。

1 tolDC 诱导免疫耐受

T 细胞应答是机体对抗原产生免疫反应的关键环节,DC 可诱导 T 细胞的活化与耐受,具有双重功能。DC 在体内识别抗原后通过 3 个阶段激活 T 细胞增殖。首先通过主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)和 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)结合上调 MHC II, 然后共刺激因子和共刺激因子受体结合,上调 CD80 和 CD86 的表达,最后刺激 T 细胞生长因子,促进 T 细胞增殖。与免疫刺激相反,进入外周组织定居分化的 tolDC 向 T 细胞呈递抗原后则表现出免疫抑制。

tolDC 由未成熟树突状细胞(imature dendritic cell, imDC)和半成熟树突状细胞(semimature dendritic cell, semiDC)组成,主要介导 T 细胞的失活、凋亡以及诱导调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)的生成。未成熟的 DC 低表达 CD80、CD86、CD40 和 MHC, 这些因子是激活 T 细胞所必需的辅助因子。因此,由于缺乏多种共刺激分子, imDC 和 semiDC 不能活化 T 细胞,这导致抗原提呈后 T 细胞的无能或低能反应。此外, tolDC 表达吲哚胺 2,3 双加氧酶(indoleamine 2,3 dioxygenase, IDO), IDO 可催化色氨酸降解为各种色氨酸衍生的代谢物,进而干扰 T 细胞生长周期、抑制 T 细胞增殖和促进 T 细胞凋亡; tolDC 还过度表达抑制性分子,如人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)、程序性死亡配体-1/2 (programmed death ligand-1/2, PD-L1/2), 以及增加其致耐受性潜力的半乳凝素^[3-5]。另外, tolDC 亦可通过表达血红素氧合酶-1 (heme oxygenase-1, HO-1)抑制 T 细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK cell)的活性,与 Treg 建立抑制性反馈回路,同时 HO-1 能诱导血红素的分解代谢,而分解产生的一氧化碳可通过线粒体依赖性机制调节 DC 免疫原性。当用特异性 HO-1 诱导剂诱导 tolDC 后, IL-12p70 表达降低, IL-10 表达升高, tolDC 耐受性增加;若阻断 HO-1, tolDC 的免疫调节能力将会丧失^[6]。研究证明,在

小鼠心脏移植中应用特异性的 HO-1 诱导剂可抑制 DC 成熟和同种异体 T 细胞增殖,从而延长同种异体移植存活时间和延缓移植排斥反应^[7]。

Treg 是维持机体免疫耐受的重要因素。tolDC 通过细胞-细胞接触依赖信号、分泌靶向蛋白和细胞因子等机制来诱导 Treg 生成^[8]。在器官周围的淋巴管中, tolDC 分泌的 IL-10 可调节 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ T 细胞(Treg)的分化和增殖^[9]; PD-L1 与 PD-1 (programmed cell death-1)在 T 细胞上相互作用后加强 Foxp3 蛋白的表达,诱导 T 细胞失活,促进 Treg 生成^[10]。而 Treg 通过分泌 IL-10、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)下调 DC 表面 MHC II 类分子和共刺激分子的水平,当 DC 成熟度下降,不能有效刺激 T 细胞的增殖反应时,则通过负反馈机制激活更多 Treg 细胞的生成^[11]。此外, Treg 对 DC 具有较强的粘附性,导致 FasCIN (actin bundling protein)不能与 DC 有效结合, FasCIN 是免疫突触形成中的一种重要肌动蛋白^[12],对维持 DC 未成熟状态和耐受性具有重要意义。由此可见, tolDC 能诱导机体生成 Treg, Treg 亦能调节 tolDC 的耐受性, tolDC 和 Treg 的相互作用对诱导免疫耐受起了重要作用。

2 tolDC 的体外诱导培养

tolDC 主要由人血单核细胞(如 CD14⁺细胞)、啮齿类动物骨髓细胞、非人灵长类动物 CD34⁺细胞产生。不同的免疫抑制剂应用于自身免疫性疾病和移植后,也可通过不同的生物学机制促进 tolDC 生成。

2.1 地塞米松诱导培养

研究表明地塞米松(dexamethasone, DEX)可以阻碍 DC 分化、成熟和诱导凋亡,当联合使用 DEX、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)和 IL-4 后可在小鼠骨髓细胞、人类单核细胞中诱导培养产生高效耐受的 tolDC^[13]。不仅如此, DEX 诱导产生的 tolDC 在脱离 DEX 刺激后仍能保持数天,甚至一周的耐受性^[14]。然而,用 DEX 单一诱导产生 tolDC 时分化生成的细胞较少,这可能与 DEX 浓度和暴露于外界的时长有关^[13,15]。Lee 等^[13]研究发现,联合使用 DEX 和米诺环素(minocycline, MIN)能有效增加细胞分化的数量;与 DEX 单一诱导相比,向 DEX 处理的培养物中加入 MIN 可使 DC 的产生增加至约 220%,且 MIN 和 DEX

联合诱导产生的 tolDC 表现出的免疫耐受性至少等于或优于单一诱导产生的耐受性。

2.2 维生素 D₃ 诱导培养

维生素 D₃ (vitamin D₃, VitD₃)是一种多效性激素,可调节机体钙的平衡,促进固有免疫的同时抑制适应性免疫,其诱导生成的 tolDC 会分泌大量 IL-10,这一方面可促进调节性 B 细胞(regulatory B cell, Breg)的生成,抑制炎症反应,降低共刺激因子和 MHC II 的表达,另一方面还能抑制 T 细胞活性、迁移和促进 Treg 生成^[16-17]。研究显示,与其他培养方式相比, VitD₃ 和 DEX 联合诱导培养的 tolDC 更能在营养不良(或缺乏)的内环境中生存,且具有较强的抗氧化能力,同时对同种异体 T 细胞增殖的抑制作用也要强于单一诱导培养产生的 tolDC^[18]。

2.3 雷帕霉素诱导培养

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)常被用作抗癌药物和免疫抑制剂,其中复合物 mTORC1 (mammalian target of rapamycin complex 1)和 mTORC2 主要作用于 DC。雷帕霉素(rapamycin, RAPA)通过抑制 mTORC1 减少 DC 自噬和内源性抗原呈递功能,降低 MHC II 和共刺激因子的表达,从而抑制 DC 成熟,调节 DC 功能^[19]。研究表明, RAPA 通过抑制丝氨酸/苏氨酸(serine/threonine, Ser/Thr)蛋白激酶途径来抑制 T 细胞活性并促进 Foxp3⁺ Treg 细胞分泌,其诱导分化的 tolDC 应用于小鼠心脏移植模型时能延长移植物的存活时间,间接促进外周免疫耐受和减少移植后的排斥反应^[20]。

2.4 细胞因子诱导培养

具有免疫抑制作用的细胞因子具有诱导 tolDC 生成的功能,如 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、肝细胞因子和 IL-12^[21]。本实验室前期通过在体外恒河猴骨髓 CD34⁺细胞中加入重组 GM-

CSF、IL-4 和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)得到了高纯度且典型的 tolDC^[22]。不同的细胞因子所诱导培养的 DC 在功能上有一定差异。IL-10 和 TGF- β 诱导培养的 tolDC 已广泛应用于动物实验和人类自身免疫性疾病的试验中。研究表明, IL-10 和 TGF- β 诱导培养的 tolDC 具有更强的免疫耐受表型和促肿瘤逃逸作用^[23]; IL-10 诱导生成的 tolDC 可以高表达 CCR7, 具有较强的迁移能力,且能诱导 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞抗原特异性失活及 Treg 生成^[24]。另外, Boks 等^[25]发现 IL-10 诱导培养的 tolDC 在免疫耐受性和抑制 T 细胞活性方面优于 VitD₃、DEX、RAPA 和 TGF- β 诱导培养的 tolDC。因此,在免疫耐受治疗中 IL-10 诱导培养的 tolDC 被认为是最佳选择。最新研究发现, CD141 和 CD163 可稳定地高表达于 IL-10 体外诱导培养的 tolDC 表面,这对筛选 tolDC 具有重要意义^[26]。TGF- β 诱导的 tolDC 一方面提供上调 PD-L1, 促进 T 细胞失活;另一方面通过下调 MHC 和共刺激因子的表达,抑制 DC 抗原呈递能力,从而维持 DC 的未成熟状态^[12]。不同诱导剂量的 IFN- γ 对 DC 成熟度有一定影响,通常低剂量 IFN- γ 可诱导生成 tolDC。Li 等^[27]发现 IFN- γ 通过犬尿氨酸-AhR 途径维持 IDO 在 tolDC 中的表达,而受此影响生成的 Treg 对肿瘤细胞识别具有较强的敏感性。

除了上述几种诱导方法外,其他一些免疫抑制剂也可促进 tolDC 生成,例如:麦考酚吗乙酯^[28]在啮齿类动物实验模型中被证实具有延长移植物存活时间、抑制 T 细胞增殖和 DC 成熟的功能;维甲酸^[29]通过干扰 NF- κ B 通路,抑制 DC 成熟和 IL-12p70 分泌。总的来讲,不同免疫抑制剂具有不同的细胞毒性,诱导分化和生成的 tolDC 的特征也各不相同(表 1),因此,针对不同情况,应选择合适的体外诱导培养方法。

表 1 不同体外诱导方法培养的 tolDC 的特征

Table 1 The characteristics of tolDC cultured with different methods *in vitro*

Culture methods	The characteristics of tolDC
DEX+MIN ^[13]	Better tolerogenicity
VitD ₃ +DEX ^[18]	Better abilities to survive in an undernourished environment, strong antioxidant capacity, better suppressive abilities of allogeneic T cell proliferation
RAPA ^[20]	Prolong allogeneic heart-graft survival
IL-10+TGF- β ^[23]	Strong immunosuppressive phenotypes, promote tumor-immune escape
IL-10 ^[24-25]	Strong migratory capacity, higher suppressive capacity of T cells
IFN- γ ^[27]	Express IDO

3 tolDC 相关的 miRNA 调控机制

miRNA 是一种微小的调控性非编码 RNA, 它通过抑制转录或加速目标 mRNA 的降解, 最终导致靶蛋白的合成受到抑制^[30]。DC 是启动、调控并维持免疫应答的中心环节。目前越来越多的研究表明, miRNA 参与调控了 DC 的发育分化、成熟、抗原提呈、活化 T 细胞功能及细胞因子的释放^[31]。当机体受到外界刺激时, 体内 miRNA 的表达会受到影响, 其通过介导对 DC 功能的调控, 进而影响机体免疫应答的过程。

miR-let-7i 是最早发现的 miRNA 之一, 当抑制 miR-let-7i 表达时, DC 表面共刺激因子 CD80、CD86 的表达下调, 同时促炎因子的表达下降, 活化 T 细胞的能力降低, 导致 DC 耐受性增加; 此外, miR-let-7i 的低表达还可以促进 Treg 生成^[32]。相关研究报道, miR-let-7i 通过结合 SOCS1 (suppressor of cytokine signaling 1) 和 BLIMP (B lymphocyte-induced maturation protein-1) 的 3' 非翻译区 (3'-untranslated region, 3'-UTR) 影响 DC 的分化成熟, 诱导 T 细胞低反应性^[33]。另有研究表明, miR-203 在 tolDC 中的表达显著上调, 而 miR-135a 的表达则显著下调, 前者的作用靶点是 SOCS3, SOCS3 表达下调会持续激活 STAT3 信号通路, 引起白细胞浸润, 促炎因子 IL-6 分泌增多, 最终影响 tolDC 的耐受性^[34-35]; 后者会引起 GATA-3 (GATA binding protein-3) 表达升高, IFN- γ 表达减少, 从而干预机体 Th1/Th2 平衡的调节过程, 影响 tolDC 生成^[36]。影响 DC 分化过程中很重要的一条通路便是 Notch/Wnt 信号通路。研究报道, miR-125a 和 miR-99b 能共同调控 Wnt1 和 JAG1 (Notch 的配体) 的表达, 促进 DC 的分化^[37-38]。miR-23b 亦可抑制 Notch/Wnt 信号通路, 除此之外, 它还能抑制 NF- κ B 信号通路, 进而促进 DC 耐受性增加和 Treg 生成^[39]; miR-214 促进 Treg 生成则是通过 β -catenin 信号通路^[40]。另一方面, 当 DC 受到 Toll 样受体和非 Toll 样受体刺激后能分泌一些细胞因子, 这些细胞因子可参与 T 细胞分化过程, 如 IL-10 和 IL-17; 其中, IL-17 的表达受到 miR-133b 的调控, 且 miR-133b 特异性表达于 TH17 细胞^[41]。以上 miRNA 调节 DC 耐受性的主要过程如图 1 所示。另外, miRNA 调控 tolDC 的具体靶标及相关研究可见表 2。综上可知, 一种 miRNA 可以调控多种信号通路, 其通过不止一种机制调

控 DC 以影响其耐受性, 且同一靶标可能受多种 miRNA 调控。

miRNA 广泛分布于动物体内, 通过转录后水平的调节, 参与细胞的生命活动, 间接在固有免疫和适应性免疫系统中发挥着至关重要的作用^[31]。一种 miRNA 可以调控的 mRNA 不止一种, 不同的靶基因通过不同的途径影响着 DC 的耐受性, 通过增加 DC 的耐受性, 间接增强了移植物的耐受性、延缓了免疫排斥反应和自身免疫性疾病的发展, 体现了基因靶向治疗在移植和自身免疫性疾病中的潜在应用价值。本课题组在前期培养、鉴定恒河猴骨髓来源的 imDC^[22]基础上, 建立了恒河猴肝移植模型, 着重研究抑制 DC 细胞 miR-let-7i 和 miR-155 后, 恒河猴肝移植免疫耐受发生的机制。然而, 复杂的调控网络之间关系错综复杂, 不同的调控之间是否有联系还值得进一步探索。近年来, 研究者对于 miRNA 调控机制的研究取得了较大进展, 这有助于为进一步寻找依赖于 tolDC 的免疫治疗提供新思路。

表 2 miRNA 通过特定靶点调控 tolDC
Table 2 tolDCs regulated by miRNAs through specific targets

miRNA	Target	References
miR-let-7i	SOCS1, BLIMP	[32-33]
miR-203	SOCS3	[34-35]
miR-135a	GATA-3	[36]
miR-99b	Wnt1, Notch	[37]
miR-125a	Wnt1, Notch	[37-38]
miR-23b	NF- κ B, Notch	[39]
miR-214	β -catenin	[40]
miR-133b	IL-17	[41]

4 tolDC 的应用

4.1 tolDC 在移植中的应用

当患者对免疫抑制剂敏感或耐药时, tolDC 注射已成为一种新型辅助治疗方式, 其可通过改变 DC 和 T 细胞的反应来减少排斥反应。在啮齿类动物模型中, 移植前一周向受体体内输注供体 tolDC 可延长移植物存活时间^[42]。Peng 等^[43]用半乳糖素-1 诱导的供体源性 tolDC 联合凋亡淋巴细胞注射后提高了 Treg 的反应性, 促进了 T 细胞凋亡, 从而延长了肝移植物的存活时间。在恒河猴的肾移植模型中, 研究人员分别采用静脉注射和脉冲式静脉注射的方式向受体猴输入由 VitD₃ 和 IL-10 刺激产生的供体源性 tolDC, 结果显示: 采

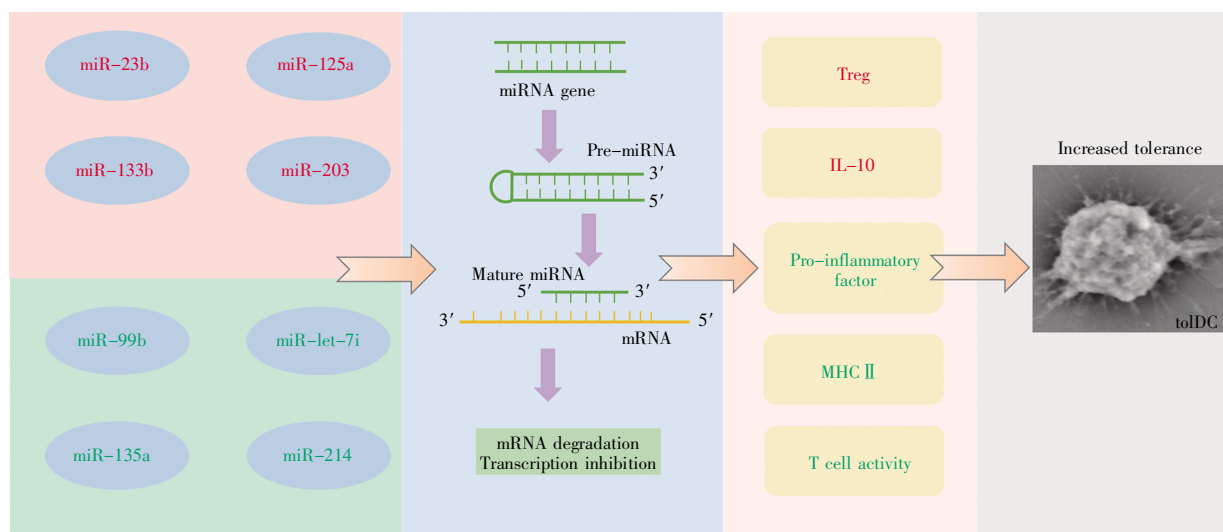


图1 miRNA 介导的 DC 耐受性调节

不同颜色的 miRNA 代表不同的状态, 其中红色表示 miRNA 上调, 绿色表示 miRNA 下调。miRNA 介导 DC 耐受性增加的机制亦用不同颜色标识, 其中红色表示生成增多, 绿色表示生成减少或受抑制。

Fig.1 Regulation of DC tolerance through miRNAs

Different colors represent different states of miRNAs. Red represents the upregulated miRNAs, and green represents the down-regulated miRNAs. Mechanisms which mediate increased tolerance of DCs by miRNAs are marked in different colors, with red indicating increased production and green indicating decreased production or suppressed state.

用静脉输注方式输入供体源性 tolDC 后, 移植物中供体的反应性记忆 T 细胞选择性减弱, 同时 CTLA4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4) 和 PD-1 的表达上调, 肾移植物存活时间延长^[44]; 采用脉冲式静脉输注方式输入供体源性 tolDC 后, 受体中 IL-17 的表达降低, T 细胞反应性下降, 肾移植物存活时间延长^[45]。Zahorchak 等^[46]通过人血分离模拟实验证实 VitD₃ 和 IL-10 诱导分化的 tolDC 在抗成熟性方面优于其他诱导剂产生的 tolDC; 在 tolDC 中 PD-L1/CD86 比例越高, 细胞效能则越好。目前, 匹兹堡大学医学中心已将供体源性的由 VitD₃ 和 IL-10 诱导分化的 tolDC 联合霉酚酸应用于肝移植的临床 I 期试验^[47]。就 tolDC 的来源而言, 在促进移植物存活方面, 供体源性 tolDC 由于缺乏 MHC、共刺激因子和促炎性因子的表达, 更能促进特异性免疫耐受; 从治疗价值考虑, 供体源性 tolDC 也要优于受体源性 tolDC^[48]。当然, 在移植中, 炎症反应和某些免疫抑制剂的应用也可能引起细胞坏死或应激细胞的吞噬, 刺激 DC 分化为成熟的免疫原性细胞, 干扰 tolDC 免疫表型的稳定, 影响 tolDC 的耐受性; 尽管如此, 已有临床研究表明, 免疫抑制剂联合应用比单一应用疗效好, 且不会干扰 tolDC 的活性^[49]。综上所述, 对于移植的细胞治疗而言, tolDC 的来源、

诱导方法、输注方式等均可能与其治疗效果息息相关。

4.2 tolDC 在自身免疫性疾病中的应用

tolDC 治疗已广泛应用于自身免疫性疾病的临床试验中, 对某些疾病治疗的可行性已得到证实, 如类风湿性关节炎、克罗恩病、I 型糖尿病等^[50]。在多发硬化症和视神经脊髓炎的 1b 期临床试验中, Nafarrate 等^[51]将体外诱导培养出的 tolDC 使用致病性自身抗原负载, 再重新输入人体内实施治疗, 结果显示: 患者体内 IL-10 增加, IFN- γ 减少, 且 Th0 细胞向 Th2 细胞分化。抗原负载的 tolDC 治疗是一种特异性的治疗方法, 不仅可模拟抗原和 DC 结合, 直接刺激效应细胞, 还能诱导产生抗原特异性效应 T 细胞。在 I 型糖尿病的临床 I 期试验中, Giannoukakis 等^[52]用针对 CD40、CD80 和 CD86 的反义寡核苷酸诱导培养的免疫抑制性 tolDC 治疗后发现, 皮内给药较静脉给药更易产生免疫耐受性, 且患者无明显不良反应; 同时, 应用自体 tolDC 治疗的患者其体内 B220⁺CD11c⁻ B 细胞有效增加, 但 tolDC 的疗效暂未得到证实。在大多数类风湿性关节炎患者中人们检测出了抗瓜氨酸抗体, 瓜氨酸是合成 L-精氨酸的前体, L-精氨酸具有抗排斥和增强免疫耐受的功能, Benham 等^[53]采取瓜氨酸抗原负载的 tolDC 对患者实施治

疗后发现, Treg/T 细胞比值增加, DAS28 下降, 且未诱发类风湿性关节炎的发作。此外, 在治疗系统性红斑狼疮方面, 有研究者提出通过靶向患者体内的 DC 并改变细胞表型促使其转换为 tolDC, 或通过基因工程技术改造 tolDC, 诱导患者体内生成特异的 Treg^[54]。由于各种自身免疫性疾病的发病机制不同, 且患者的遗传背景也不同, 因此 tolDC 的免疫疗法需视具体情况选择。随着二代测序技术的普及, tolDC 转录谱特征^[26, 55]的分析对研究 tolDC 细胞表型、生物标记物具有重要意义, 可为 tolDC 的免疫疗法奠定基础。

5 结语与展望

tolDC 在抑制器官移植排斥和防止自身免疫疾病中有着广泛的应用前景, 受到越来越多学者的重视。tolDC 是适应性免疫反应的基础, 可由多种药物诱导产生, 且不同药物诱导的 tolDC 具有其独特的功能, 这在不同的移植术、自身免疫性疾病实验模型和临床应用中已得到相应证实。值得注意的是, 器官存在其独特的免疫耐受性, 如肝移植术后, 受体可在不服用任何抗排斥药的情况下对移植术不产生排斥反应。这可能与 tolDC 通过不同的外周免疫耐受途径介导移植免疫耐受和延长移植术存活时间有关, 而 tolDC 具体如何识别相应途径和调节细胞因子, 部分机制仍未清楚。另外, 为了防止使用 tolDC 时对机体造成其他不良的免疫反应, 应用于人体治疗的 tolDC 在功能稳定性、抗成熟性、纯度和数量等方面都具有较高的要求。因此, 仍需要通过更多动物模型、体内实验尤其是临床试验来探索 tolDC 发挥免疫耐受的机制, 这对将来移植免疫耐受和自体免疫性疾病的防治具有重大意义。

参考文献(References):

- [1] SIM W J, MALINARICH F, FAIRHURST A M, *et al.* Generation of immature, mature and tolerogenic dendritic cells with differing metabolic phenotypes[J]. *Journal of Visualized Experiments*, 2016, 112: e54128.
- [2] MARIN E, CUTURI M C, MOREAU A. Tolerogenic dendritic cells in solid organ transplantation: where do we stand?[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 274.
- [3] MORELLI A E, THOMSON A W. Tolerogenic dendritic cells and the quest for transplant tolerance[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2007, 7(8): 610–621.
- [4] MASCANFRONI I D, YESTE A, VIEIRA S M, *et al.* IL-27 acts on DCs to suppress the T cell response and autoimmunity by inducing expression of the immunoregulatory molecule CD39[J]. *Nature Immunology*, 2013, 14(10): 1054–1063.
- [5] EZZELARAB M, THOMSON A W. Tolerogenic dendritic cells and their role in transplantation[J]. *Seminars in Immunology*, 2011, 23(4): 252–263.
- [6] WONG T H, CHEN H A, GAU R J, *et al.* Heme oxygenase-1-expressing dendritic cells promote Foxp3⁺ regulatory T cell differentiation and induce less severe airway inflammation in murine models[J]. *PLoS One*, 2016, 11(12): e0168919.
- [7] YUE Z, YU J, LU W, *et al.* Upregulation of heme oxygenase-1 endues immature dendritic cells with more potent and durable immunoregulatory properties and promotes engraftment in a stringent mouse cardiac allotransplant model[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 1515.
- [8] WAISMAN A, LUKAS D, CLAUSEN B E, *et al.* Dendritic cells as gatekeepers of tolerance[J]. *Seminars in Immunopathology*, 2017, 39(2): 153–163.
- [9] DEVI K S, ANANDASABAPATHY N. The origin of DCs and capacity for immunologic tolerance in central and peripheral tissues[J]. *Seminars in Immunopathology*, 2017, 39(2): 137–152.
- [10] FRANCISCO L M, SALINAS V H, BROWN K E, *et al.* PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells[J]. *Journal of Experimental Medicine*, 2009, 206(13): 3015–3029.
- [11] MAHNKE K, JOHNSON T S, RING S, *et al.* Tolerogenic dendritic cells and regulatory T cells: a two-way relationship[J]. *Journal of Dermatological Science*, 2007, 46(3): 159–167.
- [12] HASEGAWA H, MATSUMOTO T. Mechanisms of tolerance induction by dendritic cells *in vivo*[J]. *Frontiers in Immunology*, 2018, 9: 350.
- [13] LEE J H, PARK C S, JANG S, *et al.* Tolerogenic dendritic cells are efficiently generated using minocycline and dexamethasone[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 15087.
- [14] XIA C Q, PENG R, BEATO F, *et al.* Dexamethasone induces IL-10-producing monocyte-derived dendritic cells with durable immaturity[J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2005, 62(1): 45–54.
- [15] PIEMONTE L, MONTI P, ALLAVENA P, *et al.* Glucocorticoids affect human dendritic cell differentiation and maturation[J]. *The Journal of Immunology*, 1999, 162(11): 6473–6481.
- [16] KIM S H, JUNG H H, LEE C K. Generation, characteristics and clinical trials of *ex vivo* generated tolerogenic dendritic cells[J]. *Yonsei Medical Journal*, 2018, 59(7): 807–815.
- [17] XIE Z, CHEN J, ZHENG C, *et al.* 1,25-dihydroxyvitamin D₃-induced dendritic cells suppress experimental autoimmune encephalomyelitis by increasing proportions of the regulatory lymphocytes and reducing T helper type 1 and type 17 cells[J]. *Immunology*, 2017, 152(3): 414–424.
- [18] DÁŇOVÁ K, GROHOVÁ A, STRNADOVÁ P, *et al.* Tolerogenic dendritic cells from poorly compensated type 1 diabetes patients have decreased ability to induce stable antigen-specific T cell hyporesponsiveness and generation of suppressive regulatory T cells[J]. *The Journal of Immunology*, 2017, 198(2): 729–740.
- [19] SUKHBAATAR N, HENGSTSCHLAGER M, WEICHHART T. mTOR-mediated regulation of dendritic cell differentiation and function[J]. *Trends in Immunology*, 2016, 37(11): 778–789.
- [20] MACEDO C, TURQUIST H, METES D, *et al.* Immunoregulatory properties of rapamycin-conditioned monocyte-derived dendritic cells and their role in transplantation[J]. *Transplantation Research*, 2012, 1: 16.
- [21] DILLINGER B, AHMADI-ERBER S, LAU M, *et al.* IFN- γ and tumor gangliosides: implications for the tumor microenvironment[J]. *Cellular Immunology*, 2018, 325: 33–40.
- [22] 支良, 陈鹏, 李朝战, 等. 恒河猴骨髓来源未成熟树突状细胞的培养及鉴定[J]. *基础医学与临床*(ZHI Liang, CHEN Peng, LI Chao-zhan, *et al.* Culture and identification of immature dendritic cells from rhesus monkey myeloid[J]. *Basic & Clinical Medicine*), 2015, 35(9): 1243–1248.

- [23] RABINOVICH G A, GABRILOVICH D, SOTOMAYOR E M. Immunosuppressive strategies that are mediated by tumor cells[J]. Annual Review of Immunology, 2007, 25: 267–296.
- [24] KRYCZANOWSKY F, RAKER V, GRAULICH E, *et al.* IL-10-modulated human dendritic cells for clinical use: identification of a stable and migratory subset with improved tolerogenic activity[J]. The Journal of Immunology, 2016, 197(9): 3607–3617.
- [25] BOKS M A, KAGER-GROENLAND J R, HAASJES M S, *et al.* IL-10-generated tolerogenic dendritic cells are optimal for functional regulatory T cell induction—a comparative study of human clinical-applicable DC[J]. Clinical Immunology, 2012, 142(3): 332–342.
- [26] COMI M, AVANCINI D, SANTONI DE SIO F, *et al.* Coexpression of CD163 and CD141 identifies human circulating IL-10-producing dendritic cells (DC-10)[J]. Cellular & Molecular Immunology, 2020, 17(1): 95–107.
- [27] LI Q, HARDEN J L, ANDERSON C D, *et al.* Tolerogenic phenotype of IFN- γ induced IDO⁺ dendritic cells is maintained via an autocrine IDO kynurenine/AhR IDO loop[J]. The Journal of Immunology, 2016, 197(3): 962–970.
- [28] GREGORI S, CASORATI M, AMUCHASTEGUI S, *et al.* Regulatory T cells induced by 1 α , 25-dihydroxyvitamin D₃ and mycophenolate mofetil treatment mediate transplantation tolerance[J]. The Journal of Immunology, 2001, 167(4): 1945–1953.
- [29] OLIVEIRA L M, TEIXEIRA F M E, SATO M N. Impact of retinoic acid on immune cells and inflammatory diseases[J]. Mediators of Inflammation, 2018, 2018: 3067126.
- [30] LU T X, ROTHENBERG M E. MicroRNA[J]. The Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2018, 141(4): 1202–1207.
- [31] ZHOU H, WU L. The development and function of dendritic cell populations and their regulation by miRNAs[J]. Protein & Cell, 2017, 8(7): 501–513.
- [32] LU X, CHEN M, XUE Z, *et al.* Dendritic cells that highly express SOCS1 induce T-cell hypo-responsiveness and prolong islet allograft survival[J]. Cellular Immunology, 2017, 314: 36–41.
- [33] ZHANG M, LIU F, JIA H. Inhibition of microRNA let-7i depresses maturation and functional state of dendritic cells in response to lipopolysaccharide stimulation via targeting suppressor of cytokine signaling 1[J]. The Journal of Immunology, 2011, 187(4): 1674–1683.
- [34] SONKOLY E, WEI T, JANSON P C, *et al.* MicroRNAs: novel regulators involved in the pathogenesis of psoriasis?[J]. PLoS One, 2007, 2(7): e610.
- [35] STUMPFOVA Z, HEZOVA R, MELI A C, *et al.* MicroRNA profiling of activated and tolerogenic human dendritic cells[J]. Mediators of Inflammation, 2014, 2014: 259689.
- [36] LUO Y, DENG Y, TAO Z, *et al.* Regulatory effect of microRNA-135a on the Th1/Th2 imbalance in a murine model of allergic rhinitis[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2014, 8(4): 1105–1110.
- [37] HU X, CHEN Q, SOWRIRAJAN B, *et al.* Genome-wide analyses of microRNA profiling in interleukin-27 treated monocytederived human dendritic cells using deep sequencing: a pilot study[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(5): 925.
- [38] HOSSAIN F, MAJUMDER S, UCAR D A, *et al.* Notch signaling in myeloid cells as a regulator of tumor immune responses[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 1288.
- [39] ZHENG J, JIANG H Y, LI J, *et al.* MicroRNA-23b promotes tolerogenic properties of dendritic cells *in vitro* through inhibiting Notch1/NF- κ B signalling pathways[J]. Allergy, 2012, 67(3): 362–370.
- [40] CHAO G, XIAO-DONG Z, YU Y, *et al.* MicroRNA-214 induces dendritic cell switching from tolerance to immunity by targeting β -catenin signaling[J]. International Journal of Clinical Experimental Pathology, 2015, 8(9): 10050–10060.
- [41] HAAS J D, NISTALA K, PETERMANN F, *et al.* Expression of miRNAs miR-133b and miR-206 in the *Il17a/f* locus is co-regulated with IL-17 production in $\alpha\beta$ and $\gamma\delta$ T cells[J]. PLoS One, 2011, 6(5): e20171.
- [42] ZHOU Y, SHAN J, GUO Y, *et al.* Effects of adoptive transfer of tolerogenic dendritic cells on allograft survival in organ transplantation models: an overview of systematic reviews[J]. Journal of Immunology Research, 2016, 2016: 5730674.
- [43] PENG Y, YE Y, JIA J, *et al.* Galectin-1-induced tolerogenic dendritic cells combined with apoptotic lymphocytes prolong liver allograft survival[J]. International Immunopharmacology, 2018, 65: 470–482.
- [44] EZZELARAB M B, LU L, SHUFESKY W F, *et al.* Donor-derived regulatory dendritic cell infusion maintains donor-reactive CD4⁺CTLA4^{hi} T cells in non-human primate renal allograft recipients treated with CD28 co-stimulation blockade[J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 250.
- [45] EZZELARAB M B, RAICH-REGUE D, LU L, *et al.* Renal allograft survival in nonhuman primates infused with donor antigen-pulsed autologous regulatory dendritic cells[J]. American Journal of Transplantation, 2017, 17(6): 1476–1489.
- [46] ZAHORCHAK A F, MACEDO C, HAMM D E, *et al.* High PD-L1/CD86 MFI ratio and IL-10 secretion characterize human regulatory dendritic cells generated for clinical testing in organ transplantation[J]. Cellular Immunology, 2018, 323: 9–18.
- [47] THOMSON A W, HUMAR A, LAKKIS F G, *et al.* Regulatory dendritic cells for promotion of liver transplant operational tolerance: rationale for a clinical trial and accompanying mechanistic studies[J]. Human Immunology, 2018, 79(5): 314–321.
- [48] ROSEN S J, HARRIS P E, HARDY M A. State of the art: role of the dendritic cell in induction of allograft tolerance[J]. Transplantation, 2018, 102(10): 1603–1613.
- [49] MOREAU A, ALLIOT-LICHT B, CUTURI M C, *et al.* Tolerogenic dendritic cell therapy in organ transplantation[J]. Transplant International, 2017, 30(8): 754–764.
- [50] PHILLIPS B E, GARCIAFIGUEROA Y, TRUCCO M, *et al.* Clinical tolerogenic dendritic cells: exploring therapeutic impact on human autoimmune disease[J]. Frontiers in Immunology, 2017, 8: 1279.
- [51] NAFARRATE I Z, FLOREZ G, VILA G, *et al.* Phase 1b clinical trial with antigen-specific tolerogenic dendritic in multiple sclerosis and neuromyelitis optica: safety and immunological effects[J]. Neurology, 2017, 88(Suppl. 16): p2.330.
- [52] GIANNOUKAKIS N, PHILLIPS B, FINEGOLD D, *et al.* Phase I (safety) study of autologous tolerogenic dendritic cells in type 1 diabetic patients[J]. Diabetes Care, 2011, 34(9): 2026–2032.
- [53] BENHAM H, NEL H J, LAW S C, *et al.* Citrullinated peptide dendritic cell immunotherapy in HLA risk genotype-positive rheumatoid arthritis patients[J]. Science Translational Medicine, 2015, 7(290): 290ra87.
- [54] RITPRAJAK P, KAEWRAEMRUAN C, HIRANKARN N. Current paradigms of tolerogenic dendritic cells and clinical implications for systemic lupus erythematosus[J]. Cells, 2019, 8(10): 1291.
- [55] NAVARRO-BARRIUSO J, MANSILLA M J, QUIRANT-SÁNCHEZ B, *et al.* *MAP7* and *MUCL1* are biomarkers of vitamin D₃-induced tolerogenic dendritic cells in multiple sclerosis patients[J]. Frontiers in Immunology, 2019, 10: 1251.