

脑损伤免疫耐受治疗研究进展

闫华 李冰 王宏 亢建民

【摘要】 由于中枢神经系统特殊的解剖结构和生理机制,造成脑损伤后修复与机体其他系统存在较大差异。继发性脑损伤与炎症反应密切相关,作为一把“双刃剑”,在炎症早期对有害物质起清除作用,随着病情进展又可损伤正常脑组织。免疫抑制剂或亚低温治疗对免疫损伤具有控制作用,但同时也存在机体免疫反应低下致感染和远期致瘤的可能。因此,降低针对脑组织的自身免疫攻击的同时,不影响机体其他免疫功能的治疗方法将是最佳的优化方案,本文拟就满足优化方案的免疫耐受治疗脑损伤方面的研究进展进行综述。

【关键词】 脑损伤; 免疫耐受; 综述

Research progress of immune tolerance in the treatment of brain injury

YAN Hua, LI Bing, WANG Hong, KANG Jian-min

Department of Neurosurgery, Tianjin Huanhu Hospital, Tianjin Key Laboratory of Cerebral Vascular and Neurodegenerative Diseases, Tianjin 300060, China

Corresponding author: YAN Hua (Email: yanhua20042007@sina.com)

【Abstract】 Due to its special anatomical structures and immune pathophysiological mechanisms, brain damage repair is greatly different from damage repair of other systems. Secondary brain injury and inflammation are closely related. As a "double-edged sword", inflammation scavenges hazardous substances on the early stage of injury, but has side effects on normal brain tissue. The use of immunosuppressive therapy or hypothermia can inhibit immune injury, but the presence of reduced immunity may result in infection and tumorigenesis in the long term. Only reducing the autoimmune attack against brain tissue without affecting other immune capacity of the body will be optimized solution, and this paper will make a review on the research of immune tolerance in the treatment of brain injury with optimized program.

【Key words】 Brain injuries; Immune tolerance; Review

This study was supported by Natural Science Foundation of Tianjin (No. 13JCYBJC21100) and Tianjin Municipal Science and Technology Support Program (No. 13ZCZDSY01600).

由于神经系统疾病在发生损伤或修复过程中无一例外涉及免疫反应,如中枢神经系统肿瘤细胞免疫逃逸或颅脑创伤后继发性损伤,免疫监视和损伤均扮演重要角色。目前的研究主要集中在根据临床需要降低或增强针对脑疾病的免疫反应。其中感染和肿瘤等疾病集中于增强免疫反应,而神经变性病、颅脑创伤等则集中于降低免疫反应。单就降低免疫反应的方法而言,在采用物理手段如亚低

温、化学药物(如免疫抑制剂)等获得肯定疗效的同时,也由于其明显的不良反应而无法形成临床转化,这是由于免疫抑制剂安全剂量范围窄、可致感染、存在远期致瘤可能等。因此,单纯降低针对脑组织抗原的免疫反应而不影响机体对其他抗原免疫功能的免疫耐受成为更佳选择,笔者拟就免疫耐受治疗神经系统疾病的相关文献进行概述。

一、脑免疫学特性

1. 脑自我耐受的结构基础 以往认为,脑与免疫系统处于隔绝或相对隔绝状态,由于存在血-脑屏障和缺乏淋巴引流而使大脑成为高度免疫保守的器官^[1]。近期研究表明,脑组织具备适应性较强的免疫监视特性,存在位点专一的经典淋巴引流系统,其中大部分淋巴液经筛板进入鼻淋巴系统;脑小胶质细胞的常态功能即被设定为免疫耐受^[2-6]。

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2014.08.017

基金项目:天津市自然科学基金资助项目(项目编号:13JCYBJC21100);天津市科技计划项目(项目编号:13ZCZDSY01600)

作者单位:300060 天津市环湖医院神经外科 天津市脑血管与神经变性重点实验室

通讯作者:闫华(Email:yanhua20042007@sina.com)

脑组织良好的自我耐受保护机制能够避免因为炎症损伤而引起更多的脑功能异常改变,从而维持脑功能的稳定^[7]。中枢神经系统对炎症反应极为敏感且再生能力较差,因此限制损害的免疫特权即显得尤为重要^[8-9]。

2. 脑损伤免疫耐受治疗的必要性 众多研究显示,通过降低免疫反应而抑制病情进展的脑疾病种类颇多。神经外科手术、颅脑创伤等均可导致血-脑屏障破坏,使脑组织与血液直接沟通,脑组织抗原暴露、血液成分非限制性地流入脑组织可导致脑免疫耐受的破坏,如小胶质呈递细胞活化而诱发炎症反应。中枢神经系统炎症反应为双刃剑,既有清除创伤灶、修复损伤之作用,同时亦可促进继发性损伤^[10]。正常状态下,脑组织微环境中的抗原呈封闭状态,小胶质细胞提呈能力弱的保护机制已经无法保护疾病状态下的脑组织,由继发性炎症反应所引起的临床现象十分常见。例如:脑损伤灶周围的神经细胞凋亡增加,尤其是 MRI 所显示的水肿带内细胞凋亡现象更为明显,此已成为共识^[11]。因此,通过快速、有效的脑免疫耐受重建可以减少炎症反应造成的脑损伤,促进脑组织微环境恢复,其临床治疗意义不言而喻。

二、脑损伤免疫耐受治疗研究现状

1. 降低脑组织免疫反应的治疗方法 既往较受关注的治疗方法,包括免疫抑制剂、射线、亚低温^[12]等,均具有一定疗效。但这些治疗方法无一例外存在致受试者免疫力低下之缺陷,易诱发感染并可能有远期致瘤作用,目前逐渐退居免疫耐受重建的辅助治疗。张洪伟等^[13]通过颅脑创伤后脑脊液引流方法,促进脑脊液内脑组织抗原排出体外以降低抗体产生,经临床试验证实具有一定治疗价值。此外,建立针对脑组织抗原的免疫耐受成为当前研究之热点,其优势在于不影响机体对其他抗原的免疫功能。有研究证实,脑卒中后由于机体免疫系统受到抑制而出现神经性脾功能激活,导致 T 和 B 细胞凋亡增加^[14],推测可能与发病后机体主动降低免疫反应程度,以保护脑组织免受或仅受较小的免疫攻击有关。因此,有必要研制有效的免疫抑制剂以预防神经性脾功能激活,此种药物还应可以同时调节针对脑组织抗原的淋巴细胞功能,从而达到不降低机体免疫反应即可预防脑卒中后感染并减少因脑组织抗原暴露而受到免疫攻击之目的。据研究显示,预防性诱导针对脑组织抗原的调节性 T 细胞具

有减少特异性自身免疫反应之功效^[15]。(1) 建立胸腺免疫耐受治疗脑损伤:将星形胶质细胞与调节性 T 细胞共培养,发现 T 细胞对有丝分裂原刺激的增殖能力完全缺失,其细胞增殖停滞于 G₀/G₁ 期,这些调节性 T 细胞能够进一步阻止促有丝分裂剂诱导下的正常 T 细胞生长和中枢神经系统抗原驱动自体反应性 T 细胞的增殖;在实验性自身免疫性脑脊髓炎 (EAE) 大鼠体内注射星形胶质细胞,由其诱导的调节性 T 细胞可显著减轻中枢神经系统炎症反应和临床症状^[16]。有研究者假设 αB-晶状体蛋白、S-100β 蛋白、髓鞘蛋白脂质蛋白 (PLP)、髓鞘少突胶质细胞糖蛋白 (MOG)-α 和 β 亚型均为多发性硬化自身抗原,经实时定量聚合酶链反应 (PCR) 观察上述 5 种成分在胸腺的表达变化,结果显示:胸腺不表达髓鞘少突胶质细胞糖蛋白,其余 4 种成分均在胸腺间质上皮和髓质呈阳性表达^[17]。提示脱髓鞘疾病与胸腺对髓鞘少突胶质细胞糖蛋白不耐受有关。上述两项研究为胸腺内注射脑组织抗原所形成的免疫耐受重建的治疗价值提供了理论依据和临床前期实验支持。脑组织免疫耐受重建涉及的免疫系统,包括中枢(骨髓、胸腺、脾)和外周(血液、器官)两部分。随着胸腺免疫耐受的建立,“胸腺上皮细胞分泌神经内分泌自身肽,有别于经典的神经内分泌信号,与胸腺主要组织相容性复合物 (MHC) 密切相关”的概念被提出^[18],同时,脑组织中存在的免疫屏障及其所表达的蛋白质亦可部分在胸腺表达,由于胸腺无法与这些胸腺不表达、脑组织虽表达但封闭于脑组织内的抗原相接触,不能建立对这些抗原的自体免疫耐受机制,因此使免疫中枢进行“特异性脑组织抗原再教育”发挥治疗作用成为了可能。采用一些治疗技术或方法,使产生和促进免疫细胞成熟的中枢器官(如胸腺)与正常状态下无法接触到的致病脑抗原相接触,免疫中枢将这些特异性抗原识别为自我成分并形成自体耐受,在不产生攻击这些抗原的淋巴细胞的同时,对其他认定的异己抗原仍保持免疫识别和攻击能力。Zheng 等^[19]向颅脑创伤模型兔胸腺内注射脑组织抗原,分别通过酶联免疫吸附试验 (ELISA) 和流式细胞术检测血清 IL-1 和转化生长因子-β (TGF-β) 变化以及外周血 CD4/CD25 调节性 T 细胞比例,证实胸腺注射脑脊液和脑组织匀浆对颅脑创伤有一定治疗作用。(2) 建立黏膜免疫耐受和干细胞致免疫耐受方法治疗颅脑创伤:黏膜免疫耐受系指一种蛋白质与特殊黏膜接触

后,局部形成免疫反应,而全身却对这种蛋白质耐受。近年研究业已证实,通过口服抗原于肠道黏膜对该抗原进行免疫加工,继而形成全身免疫系统对该抗原的耐受^[20];亦可经鼻黏膜滴注抗原,由鼻黏膜淋巴细胞、颈部淋巴结进行免疫加工,形成全身免疫系统对该抗原的耐受。目前有关采用免疫中枢进行“特异性抗原再教育”和“黏膜免疫耐受”获得治疗的疾病不胜枚举。例如,服用髓鞘少突胶质细胞糖蛋白致免疫耐受治疗自发性脑脊髓炎,或脂肪间充质干细胞静脉注射致免疫耐受治疗自发性脑脊髓炎^[21]、多发性硬化^[22];神经系统炎症反应可能引起帕金森病,骨髓移植可治疗帕金森病^[23-24];经鼻黏膜滴注内皮细胞选择素致免疫耐受治疗短暂性脑缺血发作、血管性痴呆^[25-26];免疫耐受与重症肌无力^[27];服用 β -微管蛋白致免疫耐受治疗自发性听力丧失^[28];经鼻黏膜滴注内皮细胞选择素预耐受治疗动脉粥样硬化^[29]。张洪伟等^[30]和Yan等^[31]采用颅脑创伤患者口服自身脑脊液、颅脑创伤免静脉注射脐带间充质干细胞和未成熟树突状细胞两种途径分别建立免疫耐受,结果显示,无论患者还是实验动物血清学多项炎症因子检测均显示免疫耐受建立且具有减轻颅脑创伤的作用。Ayer等^[32]于小鼠部分脑组织切除术前,经鼻黏膜予髓磷脂碱性蛋白预处理小鼠,术后48小时行神经功能缺损和脑水肿程度评价,同时检测其血清白细胞介素、转化生长因子、超敏反应试验等,结果显示,经脑组织抗原预处理后形成的髓鞘碱性蛋白刺激建立的免疫耐受,能够减轻小鼠手术、电凝等外科损伤引起的神经炎症反应,具有神经保护作用。表明免疫耐受机制重建适用于多种中枢神经系统疾病,今后应进一步深入研究使上述实验室成果尽快转化为临床应用。(3)建立肝脏途径免疫耐受机制治疗脑损伤:根据肝脏在免疫耐受机制中的重要作用,通过肝细胞转染MBP基因治疗自发性脑脊髓炎^[33],证实可以通过门静脉系统形成免疫耐受治疗自身免疫性疾病的可能。

2. 免疫耐受治疗模式 目前已知的免疫耐受治疗各种脑疾病的基本模式包括:(1)免疫中枢干预模式(胸腺注射单一抗原、骨髓干细胞经特异性抗原诱导后注射)。(2)经黏膜接触抗原致特异性抗原-抗体反应全身免疫耐受模式,包括利用肝脏建立的免疫耐受功能行门静脉单一抗原注射、口服抗原可致局部肠黏膜特异性免疫而抑制全身免疫反应

形成免疫耐受、经鼻黏膜滴注抗原致特异性抗原免疫耐受。

三、免疫耐受治疗脑损伤存在的问题

目前,大多数研究所选择的免疫耐受干预因素仅是不同种类的单一脑组织抗原,但建立免疫耐受后对同一种神经系统疾病均可观察到相似的治疗效果。为此,有学者提出了“旁观者治疗效应”学说,用于解释对不同抗原耐受后可取得几乎相似治疗效果的原因,至于这种抗原是否为责任抗原则无法确定。笔者经检索文献发现,一种脑组织抗原耐受机制能够治疗多种神经系统疾病。例如,孤独症患者有多种脑组织特异性自身抗体,提示此类患儿在幼儿期曾对某种或多种神经抗原自身免疫耐受缺失^[34],由此可见脑组织抗原的复杂多样性。对关节炎动物模型的研究也发现,有多种关节滑膜蛋白质具有致免疫耐受之作用,经免疫耐受预处理后,关节炎可获得缓解。鉴于多种抗原均可被免疫识别所攻击,目前的实验室技术尚无法分清抗原出现的先后顺序,故以选择多种抗原联合建立免疫耐受机制的方法更可取。因此,国内肖刚和甘华^[35]提出:凡需通过免疫耐受治疗的疾病,无须明确自身抗原的来源或类型,只要知道所服用抗原源于自身免疫性疾病的靶器官即可。

综上所述,建立免疫耐受机制治疗脑损伤具有较高的临床实用价值,不同免疫耐受途径各有特点,对其中部分途径的研究已进入临床转化试验阶段。目前亟待克服的问题是:口服免疫耐受需大量抗原,约为鼻黏膜免疫耐受所用抗原剂量的100倍;自体脑组织抗原注射途径受自体脑组织和脑脊液数量的限制;使用异体脑组织抗原或干细胞存在罹患传染病和(或)伦理学问题。因此,按照疾病种类和个体差异进行区分,选择高效的药物种类和安全的给药途径从而实现个体化治疗,是今后免疫耐受重建之发展趋势。

参 考 文 献

- [1] Yang I, Han SJ, Kaur G, Crane C, Parsa AT. The role of microglia in central nervous system immunity and glioma immunology. *J Clin Neurosci*, 2010, 17:6-10.
- [2] Laman JD, Weller RO. Drainage of cells and soluble antigen from the CNS to regional lymph nodes. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2013, 8:840-856.
- [3] Kaur G, Han SJ, Yang I, Crane C. Microglia and central nervous system immunity. *Neurosurg Clin N Am*, 2010, 21:43-51.
- [4] Weller RO, Galea I, Carare RO, Minagar A. Pathophysiology of the lymphatic drainage of the central nervous system: implications for

- pathogenesis and therapy of multiple sclerosis. *Pathophysiology*, 2010, 17:295-306.
- [5] Huang YH, Airas L, Schwab N, Wiendl H. Janus head: the dual role of HLA-G in CNS immunity. *Cell Mol Life Sci*, 2011, 68:407-416.
- [6] Forrester JV, Xu H, Kuffová L, Dick AD, McMenamin PG. Dendritic cell physiology and function in the eye. *Immunol Rev*, 2010, 234:282-304.
- [7] Ferguson TA, Griffith TS. The role of Fas ligand and TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in the ocular immune response. *Chem Immunol Allergy*, 2007, 92:140-154.
- [8] Galea I, Bechmann I, Perry VH. What is immune privilege (not)? *Trends Immunol*, 2007, 28:12-18.
- [9] Cobbold SP, Adams E, Graca L, Daley S, Yates S, Paterson A, Robertson NJ, Nolan KF, Fairchild PJ, Waldmann H. Immune privilege induced by regulatory T cells in transplantation tolerance. *Immunol Rev*, 2006, 213:239-255.
- [10] Gan Y, Liu Q, Wu W, Yin JX, Bai XF, Shen R, Wang Y, Chen J, La Cava A, Poursine-Laurent J, Yokoyama W, Shi FD. Ischemic neurons recruit natural killer cells that accelerate brain infarction. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2014, 111:2704-2709.
- [11] Mergenthaler P, Dirnagl U, Meisel A. Pathophysiology of stroke: lessons from animal models. *Metab Brain Dis*, 2004, 19(3/4):151-167.
- [12] Chen D, Yan H, Li ZT, Xu P, Xue J, Wu QL, Liu K, Zhi DS. Inhibitory effects of mild hypothermia therapy on production of anti-brain antibody. *Tianjin Yi Yao*, 2009, 37:770-771. [陈东, 闫华, 李志涛, 徐鹏, 薛静, 武俏丽, 刘睎, 只达石. 亚低温抑制抗脑抗体产生的相关研究. *天津医药*, 2009, 37:770-771.]
- [13] Zhang HW, Yan H, Wu QL, Zhang GB, Liu K, Zhi DS. Effects of cerebrospinal fluid drainage on changes of antibrain-antibody and interleukin-1 β in rabbits with traumatic brain injury. *Tianjin Yi Yao*, 2012, 40:57-59. [张洪伟, 闫华, 武俏丽, 张国斌, 刘睎, 只达石. 脑脊液引流对颅脑创伤后免疫损伤的影响. *天津医药*, 2012, 40:57-59.]
- [14] Offner H, Vandenbark AA, Hurn PD. Effect of experimental stroke on peripheral immunity: CNS ischemia induces profound immunosuppression. *Neuroscience*, 2009, 158:1098-1111.
- [15] Gee JM, Kalil A, Thullbery M, Becker KJ. Induction of immunologic tolerance to myelin basic protein prevents central nervous system autoimmunity and improves outcome after stroke. *Stroke*, 2008, 39:1575-1582.
- [16] Trajkovic V, Vuckovic O, Stosic-Grujicic S, Miljkovic D, Popadic D, Markovic M, Bumbasirevic V, Backovic A, Cvetkovic I, Harhaji L, Ramic Z, Mostarica Stojkovic M. Astrocyte-induced regulatory T cells mitigate CNS autoimmunity. *Glia*, 2004, 47:168-179.
- [17] Bruno R, Sabater L, Sospedra M, Ferrer-Francesch X, Escudero D, Martínez-Cáceres E, Pujol-Borrell R. Multiple sclerosis candidate autoantigens except myelin oligodendrocyte glycoprotein are transcribed in human thymus. *Eur J Immunol*, 2002, 32:2737-2747.
- [18] Geenen V, Bodart G, Henry S, Michaux H, Dardenne O, Charlet-Renard C, Martens H, Hober D. Programming of neuroendocrine self in the thymus and its defect in the development of neuroendocrine autoimmunity. *Front Neurosci*, 2013, 7:187.
- [19] Zheng Y, Kang J, Liu B, Fan W, Wu Q, Luo K, Yan H. An experimental study on thymus immune tolerance to treat surgical brain injury. *Chin Med J*, 2014, 127:685-690.
- [20] Tsianos EV, Katsanos K. Do we really understand what the immunological disturbances in inflammatory bowel disease mean? *World J Gastroenterol*, 2009, 15:521-525.
- [21] Peron JP, Yang K, Chen ML, Brandao WN, Basso AS, Commodaro AG, Weiner HL, Rizzo LV. Oral tolerance reduces Th17 cells as well as the overall inflammation in the central nervous system of EAE mice. *J Neuroimmunol*, 2010, 227(1/2):10-17.
- [22] Shimamura M, Sato N, Morishita R. Experimental and clinical application of plasmid DNA in the field of central nervous diseases. *Curr Gene Ther*, 2011, 11:491-500.
- [23] Benner EJ, Banerjee R, Reynolds AD, Sherman S, Pisarev VM, Tshiperson V, Nemachek C, Ciborowski P, Przedborski S, Mosley RL, Gendelman HE. Nitrated alpha-synuclein immunity accelerates degeneration of nigral dopaminergic neurons. *PLoS One*, 2008, 3: E1376.
- [24] Keshet GI, Tolwani RJ, Trejo A, Kraft P, Doyonnas R, Clayberger C, Weimann JM, Blau HM. Increased host neuronal survival and motor function in BMT Parkinsonian mice: involvement of immunosuppression. *J Comp Neurol*, 2007, 504:690-701.
- [25] Hallenbeck J. How inflammation modulates central nervous system vessel activation and provides targets for intervention: a personal perspective. *Ann NY Acad Sci*, 2010, 1207:1-7.
- [26] Wakita H, Ruetzler C, Illoh KO, Chen Y, Takanohashi A, Spatz M, Hallenbeck JM. Mucosal tolerization to E-selectin protects against memory dysfunction and white matter damage in a vascular cognitive impairment model. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28: 341-353.
- [27] Luther C, Adamopoulou E, Stoeckle C, Brucklacher-Waldert V, Rosenkranz D, Stoltze L, Lauer S, Poeschel S, Melms A, Tolosa E. Prednisolone treatment induces tolerogenic dendritic cells and a regulatory milieu in myasthenia gravis patients. *J Immunol*, 2009, 183:841-848.
- [28] Cai Q, Du X, Zhou B, Cai C, Kermany MH, Yoo T. Induction of tolerance by oral administration of beta-tubulin in an animal model of autoimmune inner ear disease. *ORL J Otorhinolaryngol Relat Spec*, 2009, 71:135-141.
- [29] Li X, Johnson KR, Bryant M, Elkahloun AG, Amar M, Remaley AT, De Silva R, Hallenbeck JM, Quandt JA. Intranasal delivery of E-selectin reduces atherosclerosis in ApoE $^{-/-}$ mice. *PLoS One*, 2011, 6:E20620.
- [30] Zhang HW, Yan H, Wu QL, Zhang GB, Liu K, Zhi DS. A study on oral tolerance to treat traumatic brain injury in laboratory. *Zhonghua Shen Jing Wai Ke Za Zhi*, 2011, 27:524-527. [张洪伟, 闫华, 武俏丽, 张国斌, 刘睎, 只达石. 口服免疫耐受治疗颅脑创伤的实验研究. *中华神经外科杂志*, 2011, 27:524-527.]
- [31] Yan H, Zhang HW, Wu QL, Zhang GB, Liu K, Zhi DS, Hu ZB, Zeng XW. Increased leakage of brain antigens after traumatic brain injury and effect of immune tolerance induced by cells on traumatic brain injury. *Chin Med J (Eng)*, 2012, 125:1618-1626.
- [32] Ayer RE, Jafarian N, Chen W, Applegate RL 2nd, Colohan AR, Zhang JH. Preoperative mucosal tolerance to brain antigens and a neuroprotective immune response following surgical brain injury. *J Neurosurg*, 2012, 116:246-253.
- [33] Lüth S, Huber S, Schramm C, Buch T, Zander S, Stadelmann C, Brück W, Wraith DC, Herkel J, Lohse AW. Ectopic expression of neural autoantigen in mouse liver suppresses experimental autoimmune neuroinflammation by inducing antigen-specific Tregs. *J Clin Invest*, 2008, 118:3403-3410.
- [34] Cabanlit M, Wills S, Goines P, Ashwood P, Van de Water J. Brain-specific autoantibodies in the plasma of subjects with autistic spectrum disorder. *Ann NY Acad Sci*, 2007, 1107:92-103.
- [35] Xiao G, Gan H. Research progress of inhalation immunity tolerance mechanism. *Shanghai Mian Yi Xue Za Zhi*, 2003, 23: 139-141. [肖刚, 甘华. 吸入免疫耐受机制的研究进展. *上海免疫学杂志*, 2003, 23:139-141.]