

FasL 抑制剂对大鼠角膜移植术后角膜细胞凋亡及 Treg 的影响

曹倩, 李兰, 李勇, 李云川, 邹莹, 龙俊君, 何柳余, 刘浩文

引用: 曹倩, 李兰, 李勇, 等. FasL 抑制剂对大鼠角膜移植术后角膜细胞凋亡及 Treg 的影响. 国际眼科杂志 2023; 23 (10): 1621-1626

基金项目: 云南省科技厅科技计划项目 [No.2018FE001(-010)]

作者单位: (650000) 中国云南省昆明市第一人民医院眼科

作者简介: 曹倩, 硕士, 副主任医师, 研究方向: 眼表疾病及角膜病。

通讯作者: 李兰, 硕士, 主任医师, 博士研究生导师, 常务副院长, 研究方向: 眼表疾病及角膜病. 641106144@qq.com

收稿日期: 2022-09-12 修回日期: 2023-09-01

摘要

目的: 探索大鼠角膜移植术后玻璃体腔内注射 FasL 抑制剂对角膜细胞凋亡, 角膜 Fas、FasL 表达, 全血和颈部淋巴结中 Treg 数量及排斥反应指数的影响。

方法: 将 24 只 SD 大鼠 24 眼行穿透性角膜移植术, 术后随机分为玻璃体腔内注射 PBS 组 (12 只 12 眼)、FasL 抑制剂组 (12 只 12 眼), 每周记录角膜排斥反应指数, 术后 1、3、5wk 取全血、颈部淋巴结检测 Treg 数量, 取角膜组织测 Fas、FasL 表达及凋亡细胞数量。

结果: FasL 抑制剂组角膜 Fas、FasL 表达较 PBS 组明显下降 (均 $P < 0.05$); FasL 抑制剂组角膜细胞凋亡较 PBS 组明显减少, FasL 抑制剂组术后 5wk 凋亡最少; 术后 3wk 开始 FasL 抑制剂组 Treg 数量较 PBS 组明显升高 (均 $P < 0.05$), FasL 抑制剂组角膜移植排斥反应评分明显低于 PBS 组 (均 $P < 0.05$)。

结论: 大鼠角膜移植术后玻璃体腔内注射 FasL 抑制剂可减少角膜各层细胞凋亡, 增加全血、颈部淋巴结中 Treg 的数量, 减轻排斥反应。

关键词: FasL 抑制剂; 角膜移植; 排斥反应; Treg

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2023.10.04

Effects of FasL inhibitors on corneal apoptosis and Treg after corneal transplantation in rats

Qian Cao, Lan Li, Yong Li, Yun-Chuan Li, Ying Zou, Jun-Jun Long, Liu-Yu He, Hao-Wen Liu

Foundation item: The Science and Technology Plan Project of Yunnan Provincial Department of Science [No. 2018FE001(-010)]

Department of Ophthalmology, the First People's Hospital of Kunming, Kunming 650000, Yunnan Province, China

Correspondence to: Lan Li. Department of Ophthalmology, the First People's Hospital of Kunming, Kunming 650000, Yunnan Province, China. 641106144@qq.com

Received: 2022-09-12 Accepted: 2023-09-01

Abstract

• **AIM:** To explore the effect of intravitreal injection FasL inhibitors on corneal apoptosis, Fas, FasL expression, Treg numbers in blood and lymph nodes and rejection index in rats after corneal transplantation.

• **METHODS:** A total of 24 SD rats (24 eyes) who received penetrating keratoplasty were randomly divided into two groups: PBS group received intravitreal injection of PBS (12 rats, 12 eyes) and FasL inhibitor group (12 rats, 12 eyes). Rejection index was recorded every week and blood samples and lymph node were collected at 1, 3 and 5wk after surgery to analyze the proportions of Treg. Corneal tissue was collected for detecting the expression of Fas and FasL and number of apoptosis.

• **RESULTS:** The expression of Fas, FasL in FasL inhibitor group decreased significantly compared with the PBS group (all $P < 0.05$); Corneal cell apoptosis significantly decreased in FasL inhibitor group, and it was the lowest at 5wk after surgery; Treg numbers in blood and lymph nodes significantly increased in FasL inhibitor group at 3wk after surgery (all $P < 0.05$); rejection index of corneal transplantation in the FasL inhibitor group was significantly lower than that of PBS group (all $P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Intravitreal injection of FasL inhibitors after corneal transplantation could reduce the apoptosis in all layers of cornea, increase the number of Tregs in blood and lymph nodes, and alleviate rejection.

• **KEYWORDS:** FasL inhibitor; corneal transplantation; rejection; Treg

Citation: Cao Q, Li L, Li Y, et al. Effects of FasL inhibitors on corneal apoptosis and Treg after corneal transplantation in rats. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2023;23(10):1621-1626

0 引言

角膜移植术是终末期角膜疾病患者复明的唯一方式, 但每年手术不足万例, 相对于亟待手术的 400 万角膜盲患者来说是杯水车薪。目前我国角膜植片的主要来源是心脏死亡供体捐献 (donation after cardiac death, DCD) 的角膜。在供体角膜植片极度缺乏的情况下对于角膜新生血管、角膜穿孔等高危角膜移植术排斥反应率高达 50%^[1],

最终患者视力纠正不佳甚至再次失明。因此探索角膜移植排斥反应的发生机制尤为迫切。排斥反应是多因素参与的复杂免疫反应,其发生机制目前仍不十分清楚。既往认为主要是T细胞介导的迟发型超敏反应,细胞凋亡不会引起排斥反应,但近年来研究表明^[2-4]在同种异体器官移植中,细胞凋亡与移植后的急、慢性排斥反应有密切的联系。Fas 信号途径与 FasL 结合后,表达 Fas 的细胞被诱导发生凋亡。角膜移植术后 Fas 和 FasL 可见在上皮细胞层、基质层、内皮细胞层表达,且 Fas 和 FasL 表达程度与排斥反应程度呈正相关^[5]。近期的研究表明 Treg 细胞在角膜移植免疫排斥反应中扮演重要角色^[6],通过增加小鼠体内的 Treg 细胞数量可降低排斥反应率^[7]。为了解 Fas 途径介导角膜细胞凋亡后 Treg 细胞的变化情况,本研究建立心脏死亡供体大鼠角膜移植模型后,将 FasL 抑制剂注射到玻璃体腔内,观察角膜植片细胞凋亡情况及排斥反应,并检测大鼠全血、颈部淋巴结中 Treg 数量。旨在为角膜移植排斥反应的防治提供一定的实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料 选取体质量为 220~250g 的雄性 8~10 周龄 SD 大鼠,动物由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供,江苏美迪森生物医药有限公司有限公司供应饲料,饲养环境为清洁级,适应性饲养 1wk 后进行实验。本实验经昆明市第一人民医院医学伦理委员会动物实验伦理审批(No. YLS2020-119),符合动物伦理。

试剂:PE/Cyanine7 anti-rat CD4 Antibody (Biolegend 公司), PE anti - mouse/rat/human FOXP3 Antibody (Biolegend 公司), FITC anti-rat CD25 Antibody (Biolegend 公司), FasL 抑制剂(Selleck 公司), TUNEL 试剂盒 (Roche 公司), Fas 抗体 (Abcam 公司), FasL 抗体 Abcam 公司)。

1.2 方法

1.2.1 角膜移植模型建立 12 只 SD 大鼠建立心脏死亡模型^[8]后取双侧眼角膜作为供体植片,24 只 SD 大鼠作为受体,选取右眼作为手术眼。采用硬币法随机分为两组:PBS 组(12 只 12 眼);术毕玻璃体腔内注射 PBS 注射液 1IU;FasL 抑制剂组(12 只 12 眼);术毕玻璃体腔内

注射 FasL 抑制剂 1IU(10 μ g)。术毕结膜囊内点妥布霉素眼膏,6~0 缝线缝合眼睑中部,术后 24h 剪开眼睑缝线,点妥布霉素眼膏,每天 1 次,连续使用 1wk。

1.2.2 角膜移植术后排斥反应评分 术后用体视镜每天观察术眼角膜混浊、水肿、新生血管情况,由同一医生根据表 1 进行排斥反应评分,三项评分之和为排斥反应指数(rejection index, RI),当 RI \geq 6,确定为排斥^[9]。

1.2.3 流式细胞术 分别于术后 1、3、5wk 处死每组大鼠各 4 只,取心脏全血、颈部淋巴结,提取出单个细胞后用流式细胞术检测 Treg 数量。

1.2.4 TUNEL 染色 取角膜组织用 TUNEL 染色检测角膜细胞凋亡数量,每张切片任意取 5 个高倍视野同时对每个视野阳性细胞数进行计数。凋亡指数=阳性细胞数/有核细胞总数 \times 100%。

1.2.5 免疫荧光染色 石蜡包埋角膜组织切片后用免疫荧光染色法测 Fas/FasL 表达情况:Fas(绿色染色为阳性染色)、FasL(红色染色为阳性染色)。阳性结果使用 Image pro plus 软件,每张图片取 5 个高倍视野进行统计。阳性表达率=阳性区域面积/总面积 \times 100%。

统计学分析:采用 SPSS 22.0 软件进行统计学分析,以 GraphPad Prism 8.0.2 软件绘制图片,符合正态分布的数据使用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验;两组间比较采用独立样本 *t* 检验。以 *P*<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 术后不同时间角膜 Fas 和 FasL 含量比较 PBS 组术后不同时间角膜 Fas 含量比较差异有统计学意义(*F*=47.52,*P*=0.0016),术后 3、5wk 与术后 1wk 比较差异均有统计学意义(*P*<0.05)。FasL 抑制剂组术后不同时间角膜 Fas 含量比较差异无统计学意义(*F*=2.581,*P*=0.1906)。PBS 组术后不同时间角膜 FasL 含量结果比较差异无统计学意义(*F*=3.79,*P*=0.1193)。FasL 抑制剂组术后不同时间角膜 FasL 含量结果比较差异无统计学意义(*F*=1.036,*P*=0.434)。术后 1、3、5wk 两组间 Fas 和 FasL 含量比较差异均有统计学意义(*P*<0.05),见图 1,表 2、3。

表 1 角膜移植术后排斥反应评分标准

分值	植片混浊程度	植片水肿程度	植片新生血管程度
0	植片透明,无混浊	无水肿	无新生血管
1	植片轻度混浊	角膜基质轻度水肿、增厚	植床周边角膜新生血管
2	混浊加重,但仍可见虹膜纹理	弥漫性角膜基质水肿	新生血管达植片周边部
3	混浊进一步加重,但仍可见瞳孔	弥漫性基质水肿,并伴有上皮微囊样水肿	新生血管达植片中周部
4	完全混浊,前房窥不进	大泡样角膜病变	新生血管布满角膜植片

表 2 术后不同时间角膜 Fas 含量比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	术后 1wk	术后 3wk	术后 5wk
PBS 组	17.271 \pm 0.503	25.081 \pm 1.679 ^a	27.254 \pm 1.732 ^a
FasL 抑制剂组	5.477 \pm 0.580	6.411 \pm 1.015	7.542 \pm 1.423
<i>t</i>	159.2	14.88	16.64
<i>P</i>	<0.0001	0.0045	0.0036

表 3 术后不同时间角膜 FasL 含量比较 ($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	术后 1wk	术后 3wk	术后 5wk
PBS 组	10.762 \pm 2.122	14.078 \pm 1.284	14.732 \pm 1.154
FasL 抑制剂组	4.273 \pm 0.578	3.543 \pm 0.395	4.219 \pm 1.058
<i>t</i>	6.234	16.33	13.74
<i>P</i>	0.0248	0.0037	0.0053

注:^a*P*<0.05 vs 同组术后 1wk。

2.2 术后不同时间角膜凋亡指数比较 PBS 组术后不同时间角膜凋亡指数比较差异有统计学意义 ($F=8.167, P=0.0387$), 术后 5wk 与术后 1wk 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。FasL 抑制剂组术后不同时间角膜凋亡指数比较差异有统计学意义 ($F=49.53, P=0.0015$), 术后 3、5wk 与术后 1wk 比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。术后 1、3、5wk 两组间角膜凋亡指数比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 见图 2, 表 4。

2.3 术后不同时间全血和颈部淋巴结 Treg 数量比较 PBS 组术后不同时间全血 Treg 数量比较差异有统计学意义 ($F=77.52, P=0.0006$), 术后 3、5wk 与术后 1wk 比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 术后 5wk 与术后 3wk 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。FasL 抑制剂组术后不同时间全血 Treg 数量比较差异有统计学意义 ($F=34.96, P=0.0029$), 术后 3、5wk 与术后 1wk 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$); 术后 5wk 与术后 3wk 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。术后 1wk, 两组间全血 Treg 数量比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); 术后 3、5wk, 两组间全血 Treg 数量比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 5, 图 3A。

PBS 组术后不同时间颈部淋巴结 Treg 数量比较差异有统计学意义 ($F=18.44, P=0.0096$), 术后 5wk 与术后 1、3wk 比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。FasL 抑制剂组术后不同时间颈部淋巴结 Treg 数量比较差异有统计学意义 ($F=790.1, P<0.0001$), 术后 3、5wk 与术后 1wk 比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 术后 1wk, 两组间颈部淋巴结 Treg 数量比较差异无统计学意义 ($P>0.05$); 术后 3、5wk, 两组间颈部淋巴结 Treg 数量比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 6, 图 3B。

2.4 术后不同时间角膜植片排斥反应评分比较 PBS 组术后不同时间角膜植片排斥反应评分比较差异有统计学意义 ($F=10.44, P=0.0036$), 术后 3、5wk 与术后 1wk 比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。FasL 抑制剂组角膜植片排斥反应评分比较差异有统计学意义 ($F=4.488, P=0.0406$), 术后 5wk 与术后 1wk 比较差异有统计学意义 ($P<0.05$)。术后 1wk, 两组间角膜植片排斥反应评分比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 术后 3、5wk, 两组间角膜植片排斥反应评分比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$), 见表 7, 图 4。

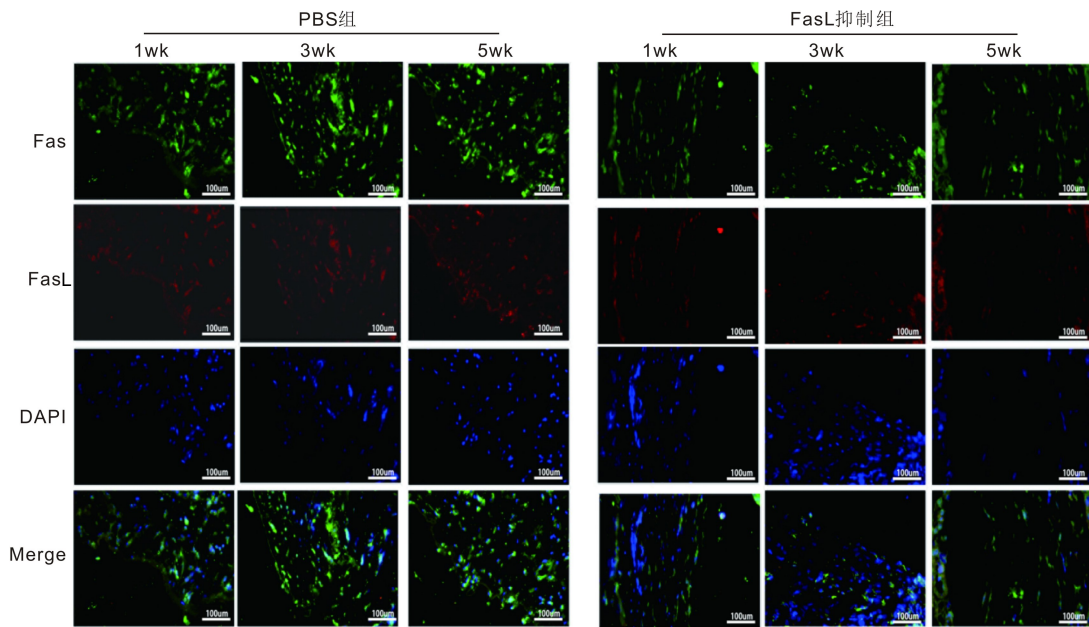


图 1 术后不同时间免疫荧光染色法检测 Fas 和 FasL 表达情况表达。

蓝色: DAPI 细胞核染色; 绿色: Fas 阳性表达; 红色: FasL 阳性

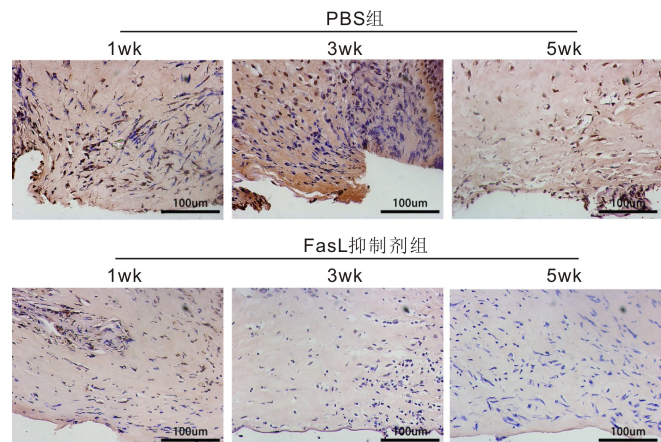


图 2 术后不同时间 TUNEL 染色检测角膜细胞凋亡情况 棕黄色染色为凋亡染色阳性细胞。

表 4 术后不同时间角膜凋亡指数比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	术后 1wk	术后 3wk	术后 5wk
PBS 组	14.078±1.285	10.762±2.122	10.980±0.629 ^a
FasL 抑制剂组	7.790±1.158	4.033±0.527 ^a	3.213±0.229 ^a
<i>t</i>	5.059	7.184	30.91
<i>P</i>	0.0369	0.0188	0.001

注: ^a $P<0.05$ vs 同组术后 1wk。

表 5 术后不同时间全血 Treg 数量比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	术后 1wk	术后 3wk	术后 5wk
PBS 组	2.780±0.688	4.289±0.044 ^a	7.399±0.373 ^{a,c}
FasL 抑制剂组	2.431±1.778	4.885±0.616 ^a	8.319±0.296 ^{a,c}
<i>t</i>	0.4021	4.784	5.275
<i>P</i>	0.7265	0.041	0.0341

注: ^a $P<0.05$ vs 同组术后 1wk; ^c $P<0.05$ vs 同组术后 3wk。

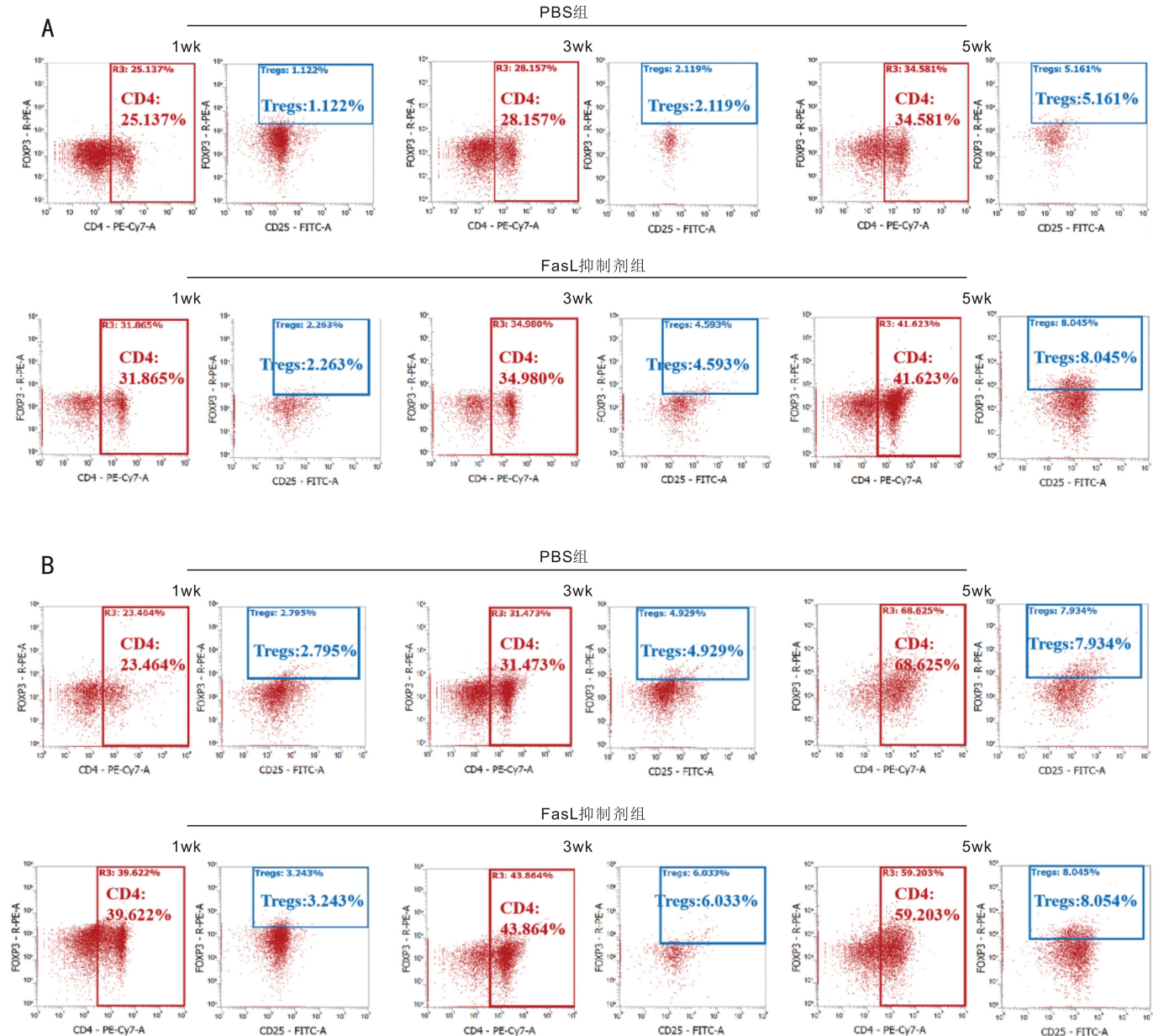


图3 术后不同时间流式细胞术检测 Treg 比例 A:全血 Treg 检测结果;B:颈部淋巴结 Treg 检测结果。

表6 术后不同时间颈部淋巴结 Treg 数量比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	术后 1wk	术后 3wk	术后 5wk
PBS 组	1.728±0.564	3.289±0.998	6.066±0.926 ^{a,c}
FasL 抑制剂组	3.518±0.099	4.941±0.093 ^a	9.531±0.408 ^{a,c}
<i>t</i>	1.639	10.5	7.134
<i>P</i>	0.2428	0.0089	0.0191

注:^a*P*<0.05 vs 同组术后 1wk; ^c*P*<0.05 vs 同组术后 3wk。

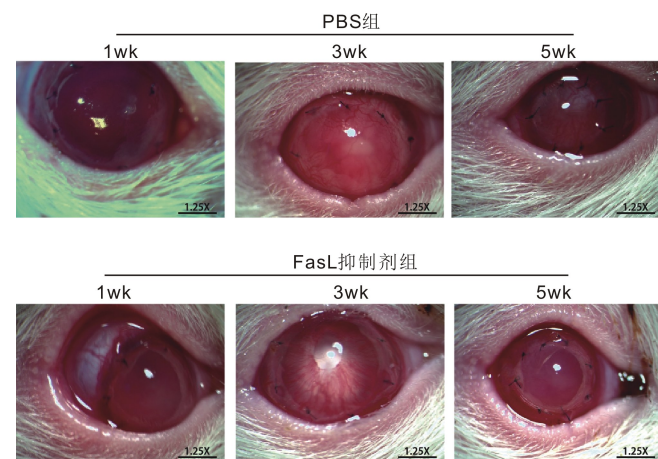


图4 体视显微镜观察两组术后不同时间移植角膜植片图。

表7 术后不同时间角膜植片排斥反应评分比较 ($\bar{x} \pm s, \text{分}$)

组别	术后 1wk	术后 3wk	术后 5wk
PBS 组	2.500±1.225	5.500±1.378 ^a	6.666±1.633 ^a
FasL 抑制剂组	2.833±0.983	4.000±1.414	5.501±1.871 ^a
<i>t</i>	0.4385	3.464	2.735
<i>P</i>	0.6793	0.018	0.0411

注:^a*P*<0.05 vs 同组术后 1wk。

3 讨论

角膜移植术后排斥反应的有效防治是临床工作中关注的重点和难点,然而角膜移植术后排斥反应是多因素共同作用的复杂机制,至今仍未完全明了。近年来的研究表明细胞凋亡与移植术后的排斥反应有密切关系。角膜移植术后内眼微环境改变,眼前段免疫赦免机制受到破坏,大量炎性细胞存在于角膜植片及房水中。角膜基质细胞受刺激后分泌 FasL,形成上皮-基质,基质-基质的旁分泌和自分泌 Fas/FasL 体系,介导和调控基质细胞凋亡。上皮和内皮细胞通过分泌 FasL,既可以通过自分泌方式作用于自身,也可以通过旁分泌作用于基质细胞,介导细胞的凋亡。FasL 抑制剂是否会减少角膜植片基质细胞的凋亡? Fas 细胞凋亡抑制分子已被确定为 Fas 信号传递的负调控因子,随后被发现在许多生理过程中发挥多方面的作用^[10]。

既往研究表明在小鼠前房内注射 Fas 受体的小肽抑制剂 ONL1204 通过抑制 Fas 信号通路,在诱导型青光眼小鼠模型中提供强大的神经保护,可以减少视网膜神经节细胞的凋亡,防止青光眼发病机制中多种炎症通路的诱导^[11]。Zacks 等^[12]发现阻断 Fas 受体的激活,可以防止在面对急性氧化应激时的视网膜色素上皮损伤,除了减少与年龄相关性黄斑病变过程相关的炎症反应外,还能直接抑制细胞死亡,表明 FasL 抑制剂无视网膜毒性。本研究使用心脏死亡供体同种类 SD 大鼠供体进行角膜移植模型构建,在术后 14d 均出现排斥反应^[8]。大鼠前房极浅,角膜移植术毕需要前房内注射空气形成前房,反复进行前房的注射操作容易造成药物渗漏,并发性白内障、角膜内皮损伤等,因此我们参照 Zacks 等^[12]方法用 FasL 抑制剂进行玻璃体腔注射,探讨 FasL 抑制剂在减轻角膜移植排斥反应中的作用机制。

近年来,发现角膜的免疫赦免地位与 Fas/FasL 系统密切相关^[13],Fas、FasL 是人体细胞表面的一种膜蛋白,二者结合后可在短短数小时内诱发细胞凋亡。Fas 属于肿瘤坏死因子—神经生长因子受体家族 I 型膜蛋白,是由 325 个氨基酸组成的分子量为 45kD 的细胞膜表面受体蛋白。FasL 是分子量约为 40kD 的 II 型膜蛋白,细胞外区约有 150 个氨基酸与 TNF 家族成员同源。许多组织及细胞均有一定的 Fas 表达,研究证实在活化的成熟淋巴细胞中 Fas 表达增高,FasL 表达局限,常见于活化的 T 淋巴细胞,也在部分睾丸和眼组织表达。

急性排斥反应发生时,角膜植片边缘及中央与正常角膜相比 Fas 和 FasL 蛋白表达均呈现上升趋势,表达于上皮层及浅基质层,距植片边缘 0.5mm 内均较中央区域表达高^[14]。既往研究结果提示 Fas 系统与凋亡在排斥反应过程中扮演了重要角色一致,推测可能是外来抗原激活了体内的免疫因子或细胞,它们可诱发局部角膜组织 Fas 及 FasL 的异常表达,进而使 Fas 系统途径介导的细胞凋亡的异常发生,造成组织损害,将引发或促进移植排斥反应的发生发展^[12]。

本实验中角膜移植术毕玻璃体腔注射 FasL 抑制剂后分别于术后 1、3、5wk 检测角膜组织 Fas、FasL 的表达,与 PBS 组相比均有不同程度下降。FasL 抑制剂组角膜组织的 Fas、FasL 含量术后 1、3、5wk 差异不明显,表明 FasL 抑制剂对降低角膜组织中 Fas、FasL 的含量的作用稳定。检测角膜凋亡细胞数量,FasL 抑制剂组较 PBS 组明显下降。术后 3wk 开始效果明显,持续至术后 5wk,且 FasL 抑制剂组从术后 3wk 开始排斥反应评分低于 PBS 组。提示玻璃体腔注射 FasL 抑制剂可减少角膜全层细胞的凋亡,减少排斥反应评分。

当眼部组织发生感染、过敏、自身免疫病等炎症反应时 Treg 细胞也迁移至病灶部位,发挥抗炎作用,抑制病程进展^[15-18]。有研究检测小鼠行同种异体角膜移植术后免疫耐受与发生排斥的小鼠植片和局部引流淋巴结内 Treg 细胞的数量及功能,证实了 Foxp3+Treg 细胞参与了眼局部角膜移植术后免疫耐受^[17]。

本实验中检测到 FasL 抑制剂组、PBS 组在术后 1wk 全血 Treg 数量差异不显著,术后 3wk 开始 FasL 抑制剂组较 PBS 组明显升高,术后 3、5wk FasL 抑制剂组颈部淋巴结中 Treg 数量较 PBS 组明显升高,排斥反应评分较 PBS 组低,且术后 5wk 排斥反应评分与术后 3wk 相比无统计学差异,表明玻璃体腔注射 FasL 抑制剂于术后 3wk 开始出现明显抗排斥作用,且一直维持至术后 5wk。可能与角膜移植术后 Treg 经引流淋巴结迁移至炎症部位发挥作用有关。文献显示当 Fas 与 FasL 以三聚体形式结合时,可激活细胞内 Fas 死亡信号系列的活性,诱导表达 Fas 的细胞发生凋亡^[15],角膜移植术后玻璃体腔注射的 FasL 抑制剂为分子量 460.34kD 的小分子化合物,可通过血房水屏障进入血液系统,抑制了 Treg 表面 Fas 与 FasL 的结合,从而减少 Treg 细胞凋亡。抑制 Fas 系统分子的过度表达,可能是排斥反应防治的有效途径。近年不少研究者提出通过调控 Treg 细胞来诱导免疫耐受的免疫治疗具有良好的运用前景^[19],主要为增加体内 Treg 数量,诱导 Treg 细胞迁移至病灶来降低排斥^[7]。CD4⁺ CD25⁺ Treg 仅占外周血及脾脏 CD4⁺ T 细胞的 5%~10%,数量较少,本研究从减少角膜移植术后 Treg 细胞凋亡方面着手,为角膜移植排斥反应的防治提供了新思路。

本实验结果提示大鼠角膜移植术后玻璃体腔注射 FasL 抑制剂 3wk 后可减少大鼠移植角膜细胞的凋亡,提高 Treg 细胞含量,提高移植免疫耐受,减少排斥反应。但到目前为止,还没有鉴定出与 Fas 细胞凋亡抑制分子相互作用的蛋白,这使得我们很难确定其结构和准确理解其功能的分子机制^[10]。因此,未来迫切需要识别 Fas 细胞凋亡抑制分子在不同生理和病理背景下的相互作用蛋白。FasL 抑制剂玻璃体腔注射引起全血和颈部淋巴结 Treg 升高的具体机制还有待进一步研究。

参考文献

1 Hos D, Matthaei M, Bock F, *et al.* Immune reactions after modern lamellar (DALK, DSAEK, DMEK) versus conventional penetrating

corneal transplantation. *Prog Retin Eye Res* 2019;73:100768

2 Ferreri F, Guerra A, Vollero L, *et al.* Age-related changes of cortical excitability and connectivity in healthy humans: non-invasive evaluation of sensorimotor network by means of TMS-EEG. *Neuroscience* 2017;357:255-263

3 Wang Q, Wei C, Ma L, *et al.* Inflammatory cytokine TNF- α promotes corneal endothelium apoptosis via upregulating TIPE2 transcription during corneal graft rejection. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol* 2018;256(4):709-715

4 Pastak M, Kleff V, Saban DR, *et al.* Gene therapy for modulation of T-cell-mediated immune response provoked by corneal transplantation. *Hum Gene Ther* 2018;29(4):467-479

5 王启明, 赵心悦, 王智. 高危角膜移植大鼠排斥反应及 VEGF-C/D 表达的研究. *国际眼科杂志* 2016;16(10):1812-1815

6 Atif M, Conti F, Gorochoy G, *et al.* Regulatory T cells in solid organ transplantation. *Clin Transl Immunol* 2020;9(2):e01099

7 边江, 王婷, 史伟云, 等. 调节性 T 细胞在角膜移植排斥反应中的研究进展. *国际眼科杂志* 2019;19(1):51-55

8 李兰, 曹倩, 李勇, 等. 探索白细胞介素-1 受体拮抗剂对大鼠角膜移植术后 Treg 的影响. *重庆医学* 2021;50(6):927-931

9 Hikita N, Lopez JS, Chan CC, *et al.* Use of topical FK506 in a corneal graft rejection model in Lewis rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1997;38(5):901-909

10 Huo JX, Xu SL, Lam KP. FAIM: an antagonist of fas-killing and beyond. *Cells* 2019;8(6):541

11 Krishnan A, Kocab AJ, Zacks DN, *et al.* A small peptide antagonist

of the Fas receptor inhibits neuroinflammation and prevents axon degeneration and retinal ganglion cell death in an inducible mouse model of glaucoma. *J Neuroinflammation* 2019;16(1):184

12 Zacks DN, Kocab AJ, Choi JJ, *et al.* Cell death in AMD: the rationale for targeting fas. *J Clin Med* 2022;11(3):592

13 李娟, 罗阿丽, 秦莉. NF- κ B 抑制剂吡咯二硫氨基甲酸酯 (PDTC) 对角膜移植大鼠角膜组织的影响. *眼科新进展* 2019;39(4):316-320

14 Gregory-Ksander M, Perez VL, Marshak-Rothstein A, *et al.* Soluble Fas ligand blocks destructive corneal inflammation in mouse models of corneal epithelial debridement and LPS induced keratitis. *Exp Eye Res* 2019;179:47-54

15 张娴, 吴伟. REM 睡眠剥夺对小鼠海马 IL-21 介导的炎症反应及 Fas/FasL 介导的神经元凋亡的影响. *中国神经免疫学和神经病学杂志* 2020;27(5):5

16 程燕, 吴洁, 朱海峰, 等. 生物工程角膜移植术后排斥反应的临床及免疫病理观察: 附 5 例报告. *国际眼科杂志* 2021;21(9):1661-1664

17 Foulsham W, Marmalidou A, Amouzegar A, *et al.* Review: The function of regulatory T cells at the ocular surface. *Ocular Surf* 2017;15(4):652-659

18 Milling S, Edgar JM. How Treg-ulate healing of the injured spinal cord? *Immunology* 2019;158(4):253-254

19 李清林, 章煌杰, 葛明华, 等. 基于 Th17/Treg 平衡和 IL-23/IL-17 炎症轴探讨淫羊藿总黄酮防治桥本甲状腺炎的作用机制. *中华中医药学刊* 2021;39(8):9