

# 巨噬细胞对免疫反应影响的研究进展

张译中 高良辉  
(海南医学院第一附属医院)

摘要: 得益于近年来基础科学的进展, 巨噬细胞已经出现在免疫学和移植研究的前沿。近年来的研究发现了以前未确定的巨噬细胞种群, 扩展了传统的巨噬细胞表型。越来越多的证据表明巨噬细胞在免疫反应中扮演着重要的角色。巨噬细胞可以启动适应性免疫反应, 延续 T 细胞介导的排斥反应和抗体介导的排斥反应, 并促进同种异体移植植物纤维化。巨噬细胞通过何种方式加重或减轻免疫排斥反应, 促进移植植物存活一直是免疫学研究的热点。本文着重对巨噬细胞的极化、不同类型巨噬细胞在器官移植中的免疫作用进行论述。

关键词: 巨噬细胞; 免疫反应; 器官移植; 调节性 T 细胞

巨噬细胞作为一种关键的炎症细胞, 既往被视为清道夫细胞, 其主要功能是清除病原体、坏死的细胞和外来分子;然而, 由于越来越多的证据表明巨噬细胞在组织炎症和修复中的重要作用, 随着人们对巨噬细胞研究的逐渐深入, 对巨噬细胞发育和功能的理解取得了显著进展, 证明了巨噬细胞在器官发生、组织稳态和促进组织损伤中的关键作用。因此, 巨噬细胞是调控临床器官移植后免疫反应的一个新的治疗靶点。

在发生慢性免疫排斥反应的移植器官中, 固有免疫细胞往往在细胞浸润中占主导地位<sup>[1]</sup>。在临床研究中表明, 在应用免疫抑制剂的情况下, 巨噬细胞浸润的多少与慢性排斥反应发生率及移植物的预后相关<sup>[2]</sup>。固有免疫细胞的激活, 特别是巨噬细胞, 可能会导致长期的炎症及修复反应, 最终导致移植物的损伤。移植物的局部炎症是慢性排斥反应的特征之一, 而巨噬细胞则是发生组织炎症必不可少的细胞<sup>[3]</sup>。越来越多的动物实验和临床研究表明, 单核细胞和巨噬细胞在移植物的免疫排斥反应及免疫耐受中发挥关键作用, 因为这些单核吞噬细胞识别异体抗原, 并触发炎症级联反应, 激活适应性免疫应答。因此, 巨噬细胞作为参与免疫排斥反应的重要细胞而引起了人们浓厚的兴趣。

## 1、巨噬细胞的分型

巨噬细胞, 最初被识别并命名为大吞噬细胞, 几乎存在于所有组织和器官中,

在固有免疫和适应性免疫中发挥着重要的作用。巨噬细胞可随着不同时间、机体内环境的改变、外源性抗原的入侵、不同细胞因子的刺激诱导产生多种不同类型的巨噬细胞分别介导促炎或抑炎反应。不同类型的巨噬细胞具有截然不同的特征, 它们在表面标志物的表达、细胞因子及趋化因子的分泌等功能方面都有不同。根据表型分为经典活化巨噬细胞即 M1 型巨噬细胞 (classically activated macrophage, 经典活化的巨噬细胞) 及 M2 型巨噬细胞 (alternatively activated macrophage, 替代性活化巨噬细胞)。根据诱导分化的细胞因子的不同, 可将 M2 分为 M2a、M2b、M2c 和 M2d 4 种亚型<sup>[4]</sup>: (1) M2a 巨噬细胞由 IL-4 或 IL-13 诱导产生, 表达甘露糖受体、巨噬细胞清除受体 1、Arg1、MHC II, 分泌 IL-12、IL-1ra、IL-8、IL-10, 能促进 Th2 型免疫应答, 参与过敏反应和杀灭吞噬寄生虫<sup>[5]</sup>; (2) M2b 巨噬细胞由 IL-1 $\beta$  或免疫复合物诱导形成, 表达 CD163、CD86、MHC II, 分泌 IL-10、CCL1, 主要参与免疫调控<sup>[6]</sup>; (3) M2c 巨噬细胞由 IL-10、糖皮质激素等诱导形成, 可分泌大量抗炎细胞因子: IL-10、TGF- $\beta$ 、IL-1ra, 主要参与组织重构及基质的沉积<sup>[5,6]</sup>; (4) M2d 巨噬细胞由 Toll 样受体(Toll-like receptors, TLR) 和腺苷 A2a 受体激动剂协同诱导形成, 分泌 IL-10 和血管内皮生长因子, 主要和促进血管生成、肿瘤生长有关<sup>[7]</sup>。此外, 根据巨噬细胞功能的不同, 还可将巨噬细胞分为 3 种类型<sup>[7]</sup>: 经典活化巨噬细胞 (相当于 M1 型巨噬细胞)、损伤修复巨噬细胞 (wound-healing macrophages, 相当于 M2a/c 型巨噬细胞)、调节性巨噬细胞 (regulatory macrophages, 相当于 M2b/c

型巨噬细胞)。

## 2、巨噬细胞的生物学性状及其特点

M1 型巨噬细胞标志物包括诱导型一氧化氮合成酶(induced intricoxide synthase, iNOS)、CD86、白介素 12(interleukin-12, IL-12) 等, M1 型巨噬细胞具有较强的抗原提呈能力, 产生一氧化氮及活性氧等毒性中间产物, 并通过分泌 IL-12 和 TNF- $\alpha$  等参与诱导 Th1 型免疫应答, 直接吞噬和杀伤病原微生物, 同时通过分泌促炎因子和趋化因子参与炎症反应, 是重要的抗感染免疫应答, 并引起急性炎症损伤。M2 型巨噬细胞标志物: 精氨酸酶 I(arginase I, Arg1)、CD206、IL-10, 诱导 Th2 型免疫应答, 通过分泌抑制性细胞因子 IL-10 和 TGF- $\beta$  等下调免疫应答, 可有效的控制炎症反应。M2 细胞还参与肿瘤 (肿瘤免疫逃逸和促肿瘤效应)、过敏反应、创伤愈合等的发生和发展<sup>[8]</sup>。不同极性的巨噬细胞并非一成不变, 在一定条件下可以发生表型转换, 表现出可塑性。

M1 型巨噬细胞和 M2 型巨噬细胞分泌的趋化因子也不同。M1 型巨噬细胞促进核转录因子  $\kappa$  B(NF- $\kappa$  B) 依赖性炎症趋化因子如 CXCL1、2、3、5、8、9、10 和 CCL2、3、4、5、11、17 的转录<sup>[9]</sup>。M2 型巨噬细胞所诱导的信号一般会阻碍 M1 型巨噬细胞产生趋化因子。如 IL-4 和 IL-10 阻碍 Toll 样受体-4 和  $\gamma$  干扰素依赖的 CXCL10、CCL5 和 CXCL9 的产生, 也会诱导自身产生与 Th2 反应有关的趋化因子, 如在 M2a 中 IL-4 和 IL-13 选择性诱导 CCL24、CCL17 和 CCL22 的产生<sup>[10]</sup>。

## 3、巨噬细胞与器官移植

器官移植是目前器官终末期疾病的最有效治疗措施, 但是移植术后的排斥反应仍是阻碍患者和移植体长期存活的主要原因。减轻移植后免疫排斥反应, 诱导移植免疫耐受是移植方向共同目标。

Wu 等报导阻断 M2 型巨噬细胞和减少内膜增生的心脏移植模型, 他们联合 CTLA4 和氧化的 ATP (oATP 术后 14、16、18、20 和 22 天) 处理 BABL/c 受体鼠, 能减轻动脉闭塞性病变, 延长移植体生存, 联合处理减少了移植体内巨噬细胞数量, M2 型减少的尤为明显, 说明了 M2 型巨噬细胞加剧慢性排斥反应<sup>[11]</sup>。趋化因子 CXCL13, 也叫 B 淋巴细胞趋化因子, 在淋巴组织的滤泡中心介导 CXCR5+B 细胞 (天然 B 细胞) 的募集, 引起趋化因子的释放, 在肾移植缺血再灌注损伤中被触发产生, 介导了 B 细胞的激活和抗体介导的体液免疫反应<sup>[12]</sup>。CXCR5 是 CXCL13 的受体, 肝脏移植外周循环中 CXCR5+CXCR3-CD4+T 细胞大量产生和肝急性排斥反应相关<sup>[13]</sup>。但是也有不同的研究结果提示: IL-1R8 在巨噬细胞的表达使巨噬细胞极性向 M2 型转化, 抑制 TLA-4 活化减少巨噬细胞激活, 保护缺血再灌注损伤后移植肾免受适应性免疫应答和炎症过度的危险, 并抑制组织纤维化及异常的体液免疫反应<sup>[14]</sup>。Gou 等研究证实: 移植体内 M2 巨噬细胞激活, 可以延长异位胰岛移植的存活, 提高胰岛细胞功能<sup>[15]</sup>。Gao 等研究发现: 小鼠受体静脉注射可溶性纤维连接蛋白, 发现能在移植体中检测到可溶性纤维连接蛋白的存在, 并促使巨噬细胞向 M2 表型转化, 调节局部和系统的免

疫反应,极大的保护了移植物免于急性排斥反应损伤,提高了小鼠心脏移植的生存率<sup>[16]</sup>。

大鼠心脏移植后巨噬细胞清除能减轻慢性排斥反应,这与再生巨噬细胞的 M2 型极性转换、减少 T 淋巴细胞转化和增生、改变 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、MCP-1 和 IL-10 的表达相关,提示 M2 型巨噬细胞能减轻慢性排斥反应<sup>[17]</sup>。心脏移植后慢性排斥反应的病因和发病机制是复杂的,目前还不清楚。通常认为在正常情况下,缺血再灌注损伤、手术损伤、感染、免疫抑制剂、体液免疫是导致慢性排斥反应的主要因素<sup>[18, 19]</sup>。有研究表明,巨噬细胞可能作为抗原提呈细胞,释放细胞因子和活性物质,并作为效应细胞参与移植排斥反应<sup>[20, 21]</sup>。在慢性排斥反应晚期,浸润细胞数量显著减少。浸润细胞比例分析显示淋巴细胞水平较低,巨噬细胞水平明显较高。

巨噬细胞近年来受到广泛关注,因为巨噬细胞不仅可对移植物造成损伤,还可通过诱导免疫耐受促进移植物存活<sup>[22]</sup>。当巨噬细胞被激活为 M2 表型后,可释放负性调节因子 IL-10、转化生长因子- $\beta$  (Transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ ) 等抑制免疫应答。TGF- $\beta$  1 是维持免疫耐受和稳态的关键因子,介导机体病变/感染后修复过程<sup>[23]</sup>。TGF- $\beta$  1 可以抑制 B 细胞的增殖、分化,从而抑制 IgG、IgM 的分泌<sup>[24]</sup>。骨髓来源的 T 细胞主要在胸腺中成熟并分化为 CD4+T 细胞和 CD8+T 细胞来发挥其免疫作用,这一过程依赖于 TCR,而 TGF- $\beta$  1 可以抑制 TCR 介导的 T 细胞激活,并促进 Treg 的产生,减轻免疫反应,诱导免疫耐受<sup>[25]</sup>。Treg 对机体的作用和其它类型 T 细胞并不相同,Treg 被公认在控制免疫反应及诱导免疫耐受方面发挥积极作用,它可以通过改变细胞因子的作用机制来抑制 CD4+T 的活化,增加抑制性因子(如 IL-10、TGF- $\beta$ ) 的分泌来诱导免疫耐受<sup>[25, 26]</sup>。有研究表明,Treg 缺陷的小鼠更易患自身免疫疾病<sup>[27]</sup>,而向受体注射 Treg 可以有有效的抑制移植后的免疫排斥反应<sup>[28]</sup>。有研究表明 M2 型巨噬细胞可以通过增加调节性 T 细胞(Regulatory T cell, Treg)的产生和聚集降低自身免疫性结肠炎的发生<sup>[29]</sup>。

此外,Treg 细胞还可以减轻 NK 细胞和 NKT 细胞的细胞毒作用<sup>[30, 31]</sup>。体外研究表明,小鼠 M2 型巨噬细胞可以通过 iNOS 依赖机制减轻 T 细胞的分化,抑制其功能。在大鼠心脏同种异体移植中,在受体鼠体内使用这种巨噬细胞,可以明显延长其存活期<sup>[32]</sup>。在大鼠的肝移植模型中 Kupffer 细胞表达的吲哚胺 2, 3-双加氧酶(indoleamine 2, 3-dioxygenase, IDO) 明显增加,而 IDO 则可以有效的抑制 T 细胞的增殖<sup>[33]</sup>。此外,在临床研究发现,提前 7 天向肾移植患者体内注射 M2 型巨噬细胞后,患者半年内仅使用低于平时剂量的免疫抑制剂即可很好的控制免疫排斥反应的发生。有研究使用药物刺激或者直接注射的方式提高受体 M2 型巨噬细胞的数量,诱导了免疫耐受,增加了移植器官的存活率,并且明显提高了受体的生存期<sup>[34]</sup>。

#### 4、小结与展望

综上所述,随着近些年研究的逐渐深入,巨噬细胞的神秘面纱逐渐被揭开,但仍有许多问题需要解决。由于巨噬细胞分 M1 型和 M2 型,并且 M2 型巨噬细胞还有多种小型,并且有各自特殊表面标志物及不同功能,这就决定了不同类型的巨噬细胞在免疫反应的发生发展过程中发挥着不同的作用。但是,也正因为巨噬细胞的类型多及之间的复杂性,我们对巨噬细胞的了解并不十分清楚,还需要进行深入的探索。部分研究认为 M2 型巨噬细胞加重慢性排斥反应,部分认为能减轻慢性排斥反应甚至诱导免疫耐受,也有实验支持两者无明显关系。并且 M2 型巨噬细胞的各种小型的具体作用及机制并不十分清楚。但目前大部分研究倾向于 M2 型巨噬细胞能减轻慢性排斥反应、诱导免疫耐受。总之,巨噬细胞在免疫排斥反应及免疫耐受中起着关键的作用,深入研究二者之间的关系,对于提高移植物活性、增加移植成功率、延长受体存活时间有着重大的意义,值得研究人员进行更加深入的研究。

#### 参考文献:

- [1]Kaul AM, Goparaju S, Dvorina N, et al. Acute and chronic rejection: compartmentalization and kinetics of counterbalancing signals in cardiac transplants[J]. *Am J Transplant*, 2015,15(2):333-345.
- [2]Toki D, Zhang W, Hor KL, et al. The role of macrophages in the development of human renal allograft fibrosis in the first year after transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2014,14(9):2126-2136.
- [3]Murray PJ, Wynn TA. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011,11(11):723-737.
- [4]Röszer T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms[J]. *Mediators Inflamm*, 2015,2015:816460.
- [5]Kong X, Gao J. Macrophage polarization: a key event in the secondary phase of acute spinal cord injury[J]. *J Cell Mol Med*, 2017,21(5):941-954.
- [6]Byrne AJ, Mathie SA, Gregory LG, et al. Pulmonary macrophages: key players in the innate defence of the airways[J]. *Thorax*, 2015,70(12):1189-1196.
- [7]Forbes SJ, Rosenthal N. Preparing the ground for tissue regeneration: from mechanism to therapy[J]. *Nat Med*, 2014,20(8):857-869.
- [8]Smith TD, Tse MJ, Read EL, et al. Regulation of macrophage polarization and plasticity by complex activation signals[J]. *Integr Biol (Camb)*, 2016,8(9):946-955.
- [9]Chapman NM, Boothby MR, Chi H. Metabolic coordination of T cell quiescence and activation[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020,20(1):55-70.
- [10]Schroder K, Sweet MJ, Hume DA. Signal integration between IFN $\gamma$  and TLR signalling pathways in macrophages[J]. *Immunobiology*, 2006,211(6-8):511-524.
- [11]Wu C, Zhao Y, Xiao X, et al. Graft-Infiltrating Macrophages Adopt an M2 Phenotype and Are Inhibited by Purinergic Receptor P2X7 Antagonist in Chronic Rejection[J]. *Am J Transplant*, 2016,16(9):2563-2573.
- [12]Kreimann K, Jang MS, Rong S, et al. Ischemia Reperfusion Injury Triggers CXCL13 Release and B-Cell Recruitment After Allogeneic Kidney Transplantation[J]. *Front Immunol*, 2020,11:1204.
- [13]Zhang K, Sun YL, Zhou SN, et al. Circulating CXCR3-CCR6-CXCR5(+)/CD4(+) T cells are associated with acute allograft rejection in liver transplantation[J]. *Immunol Lett*, 2019,213:55-61.
- [14]Aiello S, Podestà MA, Rodriguez-Ordonez PY, et al. Transplantation-Induced Ischemia-Reperfusion Injury Modulates Antigen Presentation by Donor Renal CD11c(+)/F4/80(+) Macrophages through IL-1R8 Regulation[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2020,31(3):517-531.
- [15]Gou W, Wang J, Song L, et al. Alpha-1 antitrypsin suppresses macrophage activation and promotes islet graft survival after intrahepatic islet transplantation[J]. *Am J Transplant*, 2021,21(5):1713-1724.
- [16]Gao C, Wang X, Lu J, et al. Mesenchymal stem cells transfected with sFlg2 inhibit the acute rejection of heart transplantation in mice by regulating macrophage activation[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2020,11(1):241.
- [17]Liu X, Lu Y, Lian Y, et al. Macrophage Depletion Improves Chronic Rejection in Rats With Allograft Heart Transplantation[J]. *Transplant Proc*, 2020,52(3):992-1000.
- [18]Colvin-Adams M, Agnihotri A. Cardiac allograft vasculopathy: current knowledge and future direction[J]. *Clin Transplant*,

(下转第 257 页)

(上接第 255 页)

2011,25(2):175-184.

[19]Ferrer IR, Wagener ME, Song M, et al. CD154 blockade alters innate immune cell recruitment and programs alloreactive CD8+ T cells into KLRG-1(high) short-lived effector T cells[J]. PLoS One, 2012,7(7):e40559.

[20]Krustrup D, Iversen M, Martinussen T, et al. Time elapsed after transplantation influences the relationship between the number of regulatory T cells in lung allograft biopsies and subsequent acute rejection episodes[J]. Transpl Immunol, 2014,31(1):42-47.

[21]Chazaud B. Macrophages: supportive cells for tissue repair and regeneration[J]. Immunobiology, 2014,219(3):172-178.

[22]Tse GH, Hughes J. Macrophages and transplant rejection: a novel future target?[J]. Transplantation, 2013,96(11):946-948.

[23]Lodyga M, Hinz B. TGF- $\beta$  1 - A truly transforming growth factor in fibrosis and immunity[J]. Semin Cell Dev Biol, 2020,101:123-139.

[24]Wallace CH, Wu BX, Salem M, et al. B lymphocytes confer immune tolerance via cell surface GARP-TGF- $\beta$  complex[J]. JCI Insight, 2018,3(7).

[25]Liu M, Li S, Li MO. TGF- $\beta$  Control of Adaptive Immune Tolerance: A Break From Treg Cells[J]. Bioessays, 2018,40(11):e1800063.

[26]Chaudhry A, Samstein RM, Treuting P, et al. Interleukin-10 signaling in regulatory T cells is required for suppression of Th17 cell-mediated inflammation[J]. Immunity, 2011,34(4):566-578.

[27]Bacchetta R, Barzagli F, Roncarolo MG. From IPEX syndrome to FOXP3 mutation: a lesson on immune dysregulation[J]. Ann N Y Acad Sci, 2018,1417(1):5-22.

[28]Bluestone JA, Tang Q. T(reg) cells—the next frontier of cell therapy[J]. Science, 2018,362(6411):154-155.

[29]Demignot S, Beilstein F, Morel E. Triglyceride-rich lipoproteins and cytosolic lipid droplets in enterocytes: key players in intestinal physiology and metabolic disorders[J]. Biochimie, 2014,96:48-55.

[30]Barnes MA, Carson MJ, Nair MG. Non-traditional cytokines: How catecholamines and adipokines influence macrophages in immunity, metabolism and the central nervous system[J]. Cytokine, 2015,72(2):210-219.

[31]Zoccal KF, Paula-Silva FW, Bitencourt Cda S, et al. PPAR- $\gamma$  activation by Tityus serrulatus venom regulates lipid body formation and lipid mediator production[J]. Toxicon, 2015,93:90-97.

[32]Riquelme P, Tomiuk S, Kammler A, et al. IFN- $\gamma$ -induced iNOS expression in mouse regulatory macrophages prolongs allograft survival in fully immunocompetent recipients[J]. Mol Ther, 2013,21(2):409-422.

[33]Spahn JH, Li W, Kreisel D. Innate immune cells in transplantation[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2014,19(1):14-19.

[34]Managh AJ, Hutchinson RW, Riquelme P, et al. Laser ablation-inductively coupled plasma mass spectrometry: an emerging technology for detecting rare cells in tissue sections[J]. J Immunol, 2014,193(5):2600-2608.

作者简介:

第一作者: 姓名: 张译中, 性别: 男, 民族: 汉族, 出生年月: 1996年11月, 籍贯: 山西省临汾市, 学历: 研究生在读, 专业: 外科学。

通讯作者: 姓名: 高良辉, 性别: 男, 民族: 汉族, 出生年月: 1968年6月, 籍贯: 江西省赣州市, 学历: 博士, 专业: 外科学。