

内皮损伤在移植物抗宿主病发生发展中作用的研究进展

陆文琪, 万琳*

苏州大学附属儿童医院 国家血液系统疾病临床医学研究中心, 江苏 苏州 215127

摘要: 移植物抗宿主病 (GVHD) 是异基因造血干细胞移植 (allo-HSCT) 后严重的并发症之一。免疫介导的血管内皮损伤是 GVHD 的重要环节。Allo-HSCT 前在放化疗以及感染等因素造成内皮损伤的基础上, 供者 T 细胞与受者受损内皮细胞抗原直接接触, 分泌细胞因子和炎性介质杀伤内皮细胞, 炎性细胞浸润, 导致内皮细胞进一步凋亡及耗竭, 加剧靶器官的功能损害及全身多系统损伤。探索 GVHD 的内皮损伤机制, 为 GVHD 的预防和治疗提供新思路。

关键词: 异基因造血干细胞移植; 移植物抗宿主病; 内皮损伤

中图分类号: R392.4 文献标志码: A

DOI: 10.16352/j.issn.1001-6325.2023.11.1728

Research progress of endothelial injury in the development of graft-versus-host disease

LU Wenqi, WAN Lin*

National Clinical Research Center for Hematologic Diseases, Children's Hospital of Soochow University, Suzhou 215127, China

Abstract: Graft-versus-host disease (GVHD) is one of the most serious complications after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT), resulting a very high mortality risk and no effective diagnosis and treatment method. Although an increasing number of studies suggest that immune-mediated vascular endothelial damage plays an important role in GVHD, the specific mechanism remains elusive. On the basis of endothelial injury caused by radiotherapy and chemotherapy before allo-HSCT and infection, the donor T cells directly contact with the damaged endothelial cell antigen, secrete cytokines and inflammatory mediators to kill endothelial cells, leading to further apoptosis and depletion of endothelial cells, and exacerbating the functional damage of target organs and multi-system injury of the body. To explore the endothelial injury mechanism of GVHD. This review provides a new idea for the prevention and treatment of GVHD.

Key words: allogeneic hematopoietic stem cell transplantation; graft-versus-host disease; endothelial injury

异基因造血干细胞移植 (allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT) 已成为根治血液系统疾病、代谢性疾病、免疫缺陷性疾病等的

有效手段。移植治疗后的总体存活率约 40% ~ 60%, 移植物抗宿主病 (graft-versus-host disease, GVHD) 常累及全身多个器官, 严重影响移植成功率,

收稿日期: 2023-02-07 修回日期: 2023-05-30

基金项目: 国家自然科学基金 (81800185)

* 通信作者 (corresponding author): lynnwanlin@hotmail.com

是 HSCT 患者早期死亡以及晚期影响生活质量的重要因素^[1]。血管内皮细胞的损伤是 GVHD 发生发展的始动环节,评估内皮功能可以预测移植相关并发症^[2],GVHD 的发展及用药进一步导致内皮损伤的加重^[3],本文就内皮损伤在 GVHD 发生发展中作用进行综述。

1 内皮损伤简介

内皮细胞及基底膜共同构成了血管屏障,allo-HSCT 相关血管内皮损伤的确切发病机制尚不完全清楚,其主要的病理机制包括:1) 炎性介质作用下的内皮损伤。如严重感染等原因激活单核巨噬细胞系统而释放肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)、IL-1、IL-6 等促炎因子,进一步激活白细胞和内皮细胞等效应细胞,释放氧自由基、蛋白酶等加速花生四烯酸代谢并释放血栓素 2 等炎性介质,形成所谓“细胞因子风暴”,诱发内皮损伤^[4]。2) 物理化学因素介导内皮损伤的发生。在 allo-HSCT 预处理阶段,超大剂量放射/化学治疗造成炎性因子的产生,从而导致内皮细胞受到不同程度的损伤^[5]。3) 同种异基因免疫反应使用的免疫抑制剂如环孢素 A、他克莫司等,也可引起血管内皮损伤^[3]。综上所述,allo-HSCT 中炎性介质、细胞因子、放射/化学治疗及免疫抑制剂是导致内皮损伤从而诱发移植后相关并发症的主要原因,既往研究均停留在细胞因子的释放导致内皮损伤的一元论阶段,尚缺少相关研究解析移植后患者血管微环境中免疫细胞的功能变化对血管内皮细胞功能的影响。内皮细胞存在异质性,在不同组织器官中表型存在差异。

2 内皮损伤在 GVHD 发病中作用的研究进展

2.1 内皮损伤在皮肤 GVHD 中的作用

皮肤 GVHD 通常在急性期以红皮病的形式出现,而在慢性期的皮肤损害表现与自身免疫性疾病的临床表现类似,通过病理活检可发现血管内皮细胞增生和微血管病变^[6]。与同期无 GVHD 患者及健康人群相比,GVHD 患者皮肤样本中细胞毒性 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)活化通过促进血管性血友病因子(vWF)水平升高来介导皮肤微血管内皮损伤。供者 T 细胞与受者血管内皮细

胞抗原直接接触,分化产生 CTL,CTL 活化分泌各种细胞因子和炎性介质进一步杀伤内皮细胞,从而导致血浆 vWF 水平升高。CTL 存在两种杀伤机制:1) 颗粒酶和穿孔素;2) Fas/FasL:在 Fas 配体缺陷模型小鼠中,既没有血管损伤也没有上皮细胞死亡,提示其内皮损伤机制可能与 Fas/FasL 相关^[7]。慢性 GVHD 皮肤病变的转录组测序中发现 γ 干扰素(IFN- γ)信号通路的失调与其密切相关,其中髓细胞触发受体 1(triggering receptor expressed on myeloid cells-1, TREM1)的过量表达提示巨噬细胞的浸润^[8],巨噬细胞的活化以及相对应的反应对后续组织修复转归起着重要作用。

2.2 内皮损伤在肠道 GVHD 中的作用

血管内皮损伤可以多角度地促进肠道 GVHD。首先,肠道微血管内皮中内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)和诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)水平的失调可导致肠道内皮的弥漫性损伤^[9],iNOS 的激活可能是肠道 GVHD 发生内皮损伤的主要机制。而内皮细胞除了覆盖在血管壁,同时也覆盖在淋巴管壁。肠黏膜固有层的 CD45⁻CD90⁺CD31⁺淋巴内皮细胞(lymphatic endothelial cells, LECs)的数量及功能与 GVHD 的进展息息相关,R-Spo3(R-Spondin)是肠内产生的主要 R-Spo 家族成员,主要由肠黏膜固有层的 CD45⁻CD90⁺CD31⁺淋巴内皮细胞(LECs)产生,R-Spo 家族调控 WNT 信号通路并刺激肠干细胞(intestinal stem cells, ISC)的增殖和分化。肠道 GVHD 中 LECs 的数量显著减少,导致 R-Spo3 的产生受损,可能是肠道 GVHD 延迟组织修复和黏膜防御缺陷的一种新机制^[10]。此外,血管内皮生长因子的表达与肠道 GVHD 的进展相关。抗血管内皮生长因子受体 3(VEGFR-3)单克隆抗体可抑制急性移植物抗宿主病(acute GVHD, aGVHD)相关的淋巴管生成,改善了 aGVHD 并提高了小鼠模型的存活率^[11],提示淋巴内皮的破坏和新生可能是同时进行的,GVHD 的免疫机制参与了这个过程。

2.3 内皮损伤在肾脏 GVHD 中的作用

肾脏 GVHD 的发生发展与毛细血管内皮细胞损伤呈正相关。补体的过度活化与肾脏 GVHD 密切相关,移植相关血栓性微血管病(transplantation associated thrombotic microangiopathy, TA-TMA)患

者中性粒细胞活化释放颗粒蛋白,与双链 DNA(dsDNA)一起形成中性粒细胞胞外诱捕网(neutrophil extracellular traps, NETs),dsDNA水平升高与GVHD相关,提示NETs的形成可能是内皮损伤引起补体激活的重要机制^[12]。血管内皮细胞的损伤常与血液微环境中的氧分压变化密切相关,与非TA-TMA对照组相比,TA-TMA患者的低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)水平明显增高,HIF-1 α 的上调介导了人脐静脉内皮细胞(HUVECs)的功能障碍^[13]。单核巨噬细胞是人体重要的免疫细胞之一,在缺氧环境下,巨噬细胞朝促炎方向极化,抑制低氧环境下巨噬细胞的极化可能是阻断肾脏毛细血管内皮细胞损伤的关键,是抑制毛细血管渗漏综合征(capillary leak syndrome, CLS)发生发展的关键环节,推测GVHD状态下HIF-1 α 的时序性变化可能对巨噬细胞极化产生影响。

2.4 内皮损伤在肝脏GVHD中的作用

肝脏内皮细胞损伤是肝窦阻塞综合征(sinusoidal obstruction syndrome, SOS)的主要原因。SOS的特点是肝脏肿大、胆红素升高,液体潴留,与放化疗、感染及GVHD导致的内皮细胞激活和损伤密切相关^[14]。在基于骨髓性化疗的临床相关GVHD小鼠模型中,存在血管细胞黏附分子-1(VCAM-1)上调、eNOS下调及肝脏血栓形成^[15]。另一项关于小鼠aGVHD的实验中,小鼠内皮细胞与基膜间周细胞覆盖减少,并伴有血管内皮钙黏蛋白(VE-cadherin)表达减少,从而导致内皮屏障功能损害,并发CLS,使得aGVHD靶器官渗漏增加^[16],加重胸腹水及组织水肿。

2.5 内皮损伤在其他靶器官中的作用

心室内表面的内皮细胞称为心内膜,而心血管系统的内皮损伤也会直接影响动脉功能甚至引起相应靶器官损害。HSCT后患者内皮功能障碍和血栓形成风险是明显增加的,且这一风险与传统的心血管危险因素无关^[17]。大脑中的内皮细胞紧密连接,形成血脑屏障,GVHD患者中枢神经系统(CNS)中小胶质细胞的激活和TNF生成增加,GVHD增加了小胶质细胞TGF- β 活化激酶1(TAK1)的激活和NF- κ B/p38 MAPK信号通路,而抑制TAK1可减少TNF的产生和小胶质细胞、Th1和Th17细胞浸润以及人血管内皮细胞黏附分子1(VCAM-1)的MHC-II

表达,并改善神经认知活性^[18]。小鼠aGVHD模型中的角膜内皮发现出现眼部GVHD的小鼠角膜内皮细胞数量显著减少,可能与促炎标志物NK1R表达增加有关^[19],炎性介质介导内皮细胞凋亡。

3 血管内皮作为GVHD的治疗靶点

3.1 抑制T细胞浸润

皮质类固醇目前仍是GVHD的一线治疗药物,单倍体HSCT小鼠模型中早期腹腔注射强的松龙(每天2 mg/kg)可减轻GVHD的临床严重程度。皮质类固醇通过介导IFN- γ 、TNF- α 、CXCL9-11、CCL2-3、ICAM-1表达而发挥抗GVHD的作用。此外,血栓调节蛋白产生的蛋白酶可通过激活蛋白C(aPC)通过调节性T细胞(Tregs, CD4⁺FOXP3⁺)上的蛋白酶激活受体(PAR)2/PAR3异源二聚体,从而限制异体T细胞的激活改善GVHD^[20]。表皮生长因子样结构域蛋白7(EGFL7)通过抑制内皮细胞激活和T细胞迁移在减轻炎症反应中发挥重要作用,在aGVHD小鼠模型中使用EGFL7可以降低aGVHD的严重程度,并提高受体小鼠在异基因移植后的存活率,且不影响移植抗白血病的效果^[21]。去纤维肽是一种多靶点药物,有抗血栓、抗缺血、促纤溶和抗血管生成的作用,通过下调内皮黏附分子的表达来抑制白细胞-内皮相互作用,有效防止T细胞和中性粒细胞浸润以及aGVHD相关的组织损伤,从而降低aGVHD的发病率和严重程度^[22]。

3.2 抗内皮细胞凋亡

5型磷酸二酯酶(phosphodiesterase 5, PDE5)抑制剂西地那非可以抗内皮细胞凋亡并提高了其代谢活性,临床上,西地那非治疗提高了aGVHD患者生存率并减少了靶器官肠道GVHD损伤^[16]。他汀类的药物具有减少白细胞募集的免疫调节作用及上调内皮保护因子如KLF2起到内皮保护效果,有望在GVHD预防中发挥作用^[23]。CD8⁺CD45R^{low}/-Tregs分泌调节性细胞因子,能够控制实体器官移植的排斥反应,甚至诱导耐受。在人CD8⁺Tregs中稳定地引入了一种来自抗原特异性抗体(HLA-A2)的嵌合抗原受体(CAR),形成A2-CAR CD8⁺Tregs,也可以起到内皮的保护作用,有助于皮肤GVHD的治疗^[24]。

3.3 内皮细胞替代治疗

内皮祖细胞(endothelial progenitor cells, EPCs)可分化为内皮细胞并促进血管生成,在小鼠 GVHD 模型中,EPCs 的输注降低了 aGVHD 的临床症状和病理评分,减少 T 细胞的浸润,下调 MHC-II 分子,有助于改善内皮细胞的损伤,EPCs 的输注可能是预防和治理 aGVHD 的新手段^[25]。

4 问题与展望

HSCT 后 GVHD 的预防和治疗仍然是一个挑战,HSCT 相关内皮损伤本身介导 GVHD 的发生,

而 GVHD 相关免疫机制加重内皮损伤。HSCT 前后均选择更合适的治疗策略进行干预,有利于改善 HSCT 受者的预后。围绕内皮损伤与 GVHD 仍有很多问题亟待解决,如:预测 GVHD 标志物的特异性较低,临床上无法排除放化疗、药物等多因素的影响;诊断上病理解剖为金标准但现实中很难开展;治疗上目前所提出的新型治疗方案尚缺乏前瞻性的临床试验,需要进一步的研究佐证。借助动物模型排除干扰因素探索内皮损伤的机制,为预防 GVHD 及开创新型 GVHD 治疗方法提供可能。

参考文献:

- [1] McDonald GB, Sandmaier BM, Mielcarek M, *et al.* Survival, nonrelapse mortality, and relapse-related mortality after allogeneic hematopoietic cell transplantation: comparing 2003—2007 versus 2013—2017 cohorts[J]. *Ann Intern Med*, 2020, 172:229-239.
- [2] Haji S, Shiratsuchi M, Takamatsu A, *et al.* Endothelial function testing before conditioning therapy is useful for predicting transplant-related complications after allogeneic hematopoietic cell transplantation [J]. *Int J Hematol*, 2023, 117:438-445.
- [3] Boittin FX, Beddek K, Thery H, *et al.* The immunosuppressant drug cyclosporin A aggravates irradiation effects in endothelial cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2022, 602:127-134.
- [4] Mulder K, Patel AA, Kong WT, *et al.* Cross-tissue single-cell landscape of human monocytes and macrophages in health and disease [J]. *Immunity*, 2021, 54:1883-1900.
- [5] Yalcin K, Pehlivan B, Celen S, *et al.* Comparison of total Body irradiation-based versus chemotherapy-based conditionings for early complications of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with ALL [J]. *J Pediatr Hematol Oncol*, 2021, 43:266-270.
- [6] Link-Rachner CS, Sockel K, Schuetz C. Established and emerging treatments of skin GvHD[J]. *Frontiers Immunol* Vol, 2022, 13:838494.doi:10.3389/fimmu.2022.838494.
- [7] Deschaumes C, Verneuil L, Ertault-Daneshpouy M, *et al.* CD95 ligand-dependant endothelial cell death initiates oral mucosa damage in a murine model of acute graft versus host disease[J]. *Lab Invest*, 2007, 87: 417-429.
- [8] Zouali H, Lemasson J, Calugareanu A, *et al.* RNA sequencing of chronic GVHD skin lesions defines shared and unique inflammatory pathways characterizing lichen planus and morphea[J]. *Blood Adv*, 2022, 6:2805-2811.
- [9] Lopes PDD, de Assis N, de Araújo NF, *et al.* COX/iNOS dependence for angiotensin-II-induced endothelial dysfunction[J]. *Peptides*, 2022, 157:170863. doi:10.1016/j.peptides.2022.170863.
- [10] Ogasawara R, Hashimoto D, Kimura S, *et al.* Intestinal lymphatic endothelial cells produce R-spondin3 [J]. *Sci Rep*, 2018, 8: 10719. doi: 10.1038/s41598-018-29100-7.
- [11] Mertlitz S, Shi Y, Kalupa M, *et al.* Lymphangiogenesis is a feature of acute GVHD, and VEGFR-3 inhibition protects against experimental GVHD[J]. *Blood*, 2017, 129: 1865-1875.
- [12] Gloude NJ, Khandelwal P, Luebbering N, *et al.* Circulating dsDNA, endothelial injury, and complement activation in thrombotic microangiopathy and GVHD [J]. *Blood*, 2017, 130: 1259-1266.
- [13] Qi J, Pan T, You T. Upregulation of HIF-1 α contributes to complement activation in transplantation-associated thrombotic microangiopathy [J]. *Br J Haematol*, 2022, 199: 603-615.

- [14] Özkan HA, Özkan SG. Hepatic veno-occlusive disease (sinusoidal obstruction syndrome) after hematopoietic stem cell transplantation in adult patients: diagnosis, incidence, prophylaxis, and treatment[J]. *Transfus Apher Sci*, 2022, 61: 103372. doi: 10.1016/j.transci.2022.103372.
- [15] Pereira M, Lee NT, Noonan J. Early endothelial activation in a mouse model of graft *vs* host disease following chemotherapy[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 708554. doi: 10.3389/fimmu.2021.708554.
- [16] Cordes S, Mokhtari Z, Bartosova M. Endothelial damage and dysfunction in acute graft-versus-host disease [J]. *Haematologica*, 2021, 106: 2147-2160.
- [17] Gavriilaki E, Sakellari I, Anyfanti P, *et al.* Assessment of endothelial injury and pro-coagulant activity using circulating microvesicles in survivors of allogeneic hematopoietic cell transplantation[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21: 9768. doi:10.3390/ijms21249768.
- [18] Mathew NR, Vinnakota JM, Apostolova P, *et al.* Graft-versus-host disease of the CNS is mediated by TNF upregulation in microglia [J]. *J Clin Invest*, 2020, 130: 1315-1329.
- [19] Bonelli F, Lasagni Vitar RM, Merlo Pich FG, *et al.* Corneal endothelial cell reduction and increased neurokinin-1 receptor expression in a graft-versus-host disease preclinical model[J]. *Exp Eye Res*, 2022, 220:109128. doi:10.1016/j.exer.2022.109128.
- [20] Ranjan S, Goihl A, Kohli S, *et al.* Activated protein C protects from GvHD via PAR2/PAR3 signalling in regulatory T-cells [J]. *Nat Commun*, 2017, 8: 311. doi: 10.1038/s41467-017-00169-4.
- [21] Dorrance AM, Moutouou MM, Goda C, *et al.* Modulating endothelial cells with EGFL7 to diminish aGVHD after allogeneic bone marrow transplantation in mice[J]. *Blood Adv*, 2022, 6: 2403-2408.
- [22] García-Bernal D, Palomo M, Martínez CM, *et al.* Defibrotide inhibits donor leucocyte-endothelial interactions and protects against acute graft-versus-host disease[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24: 8031-8044.
- [23] Zhao K, Tian Y, Wang J, *et al.* Fluvastatin-pretreated donor cells attenuated murine aGVHD by balancing effector T cell distribution and function under the regulation of KLF2[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 2020:7619849. doi:10.1155/2020/7619849.
- [24] Bézie S, Charreau B, Vimond N, *et al.* Human CD8⁺ Tregs expressing a MHC-specific CAR display enhanced suppression of human skin rejection and GVHD in NSG mice[J]. *Blood Adv*, 2019, 3: 3522-3538.
- [25] Wang W, Ye Y, Du Y, *et al.* EPC infusion ameliorates acute graft-versus-host disease-related endothelial injury after allogeneic bone marrow transplantation[J]. *Front Immunol*, 2022, 13:1019657. doi:10.3389/fimmu.2022.1019657.