

# IL-1ra 对大鼠高危角膜植片 IL-1 $\beta$ 影响的实验研究<sup>△</sup>

周瑾 陆晓和 陈静平 党森涛 白浪 张永强

## Experimental study of IL-1 receptor antagonist on IL-1 $\beta$ in rat corneal grafts after high-risk penetrating keratoplasty

ZHOU Jin, LU Xiao-He, CHEN Jing-Ping, DANG Sen-Tao, BAI Lang, ZHANG Yong-Qiang

**[Key words]** penetrating keratoplasty; graft rejection; receptor; interleukin-1; cytokines

**[Abstract] Objective** To detect the expression of interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) and the inhibiting mechanisms of interleukin receptor antagonist (IL-1ra) on the rat cornea graft after high-risk penetrating keratoplasty. **Methods** Sprague Dawley rats were treated with corneal vascularization, and developed the high risk penetrating keratoplasty. All the models were divided into three groups: control group with normal sodium, treated group with 10 g · L<sup>-1</sup> cyclosporin (CsA) and treated group with 50 mg · L<sup>-1</sup> IL-1ra, 15 rats in each group. In situ hybridization and immunohistochemistry method were used to detect the expression of IL-1 $\beta$  mRNA and IL-1 $\beta$  protein at different times in each group. **Results** IL-1 $\beta$  mRNA can be traced in basal layer of the corneal epithelium in normal rat cornea, but not IL-1 $\beta$  protein. After high-risk keratoplasty, both the expression of IL-1 $\beta$  mRNA and IL-1 $\beta$  protein were detected in the corneal epithelium, stroma and endothelium at different times. Different groups compared at the same time of post-operation; The level of expression of IL-1 $\beta$  mRNA and IL-1 $\beta$  protein decreased in sequence as control group, 10 g · L<sup>-1</sup> CsA group and 50 mg · L<sup>-1</sup> IL-1ra group ( $P < 0.01$ ); In the acute-rejection period, the expression of IL-1 $\beta$  mRNA and protein in the 50  $\mu$ g IL-1ra group was less than that of the 10 g · L<sup>-1</sup> CsA group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** IL-1ra can influence the expression of IL-1 $\beta$ , which plays an active role in the cornea graft immunogenic rejection. And it can induce the corneal vascularization, release immunity inflammatory reaction and prolong the survival time of corneal implant.

**[Rec Adv Ophthalmol 2008;28(1):9-12,15]**

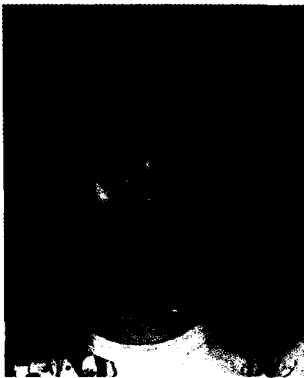
**[中图分类号]** Q959.836;R779.65 **[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1003-5141(2008)01-0009-05

**[关键词]** 穿透性角膜移植术; 移植排斥; 受体; 白细胞介素-1; 细胞因子

**[摘要]** 目的 探讨炎性细胞因子白细胞介素-1(interleukin-1, IL-1) $\beta$  在高危角膜移植免疫排斥反应中的作用及 IL-1 受体拮抗剂(IL-1 receptor antagonist, IL-1ra) 抑制大鼠高危角膜移植免疫排斥反应的作用机制。方法 诱导新生血管后的大鼠行穿透性角膜移植术, 受体鼠随机分为 3 组: 生理盐水对照组、10 g · L<sup>-1</sup> 环孢素 A(cyclosporin A, CsA) 滴眼液治疗组、50 mg · L<sup>-1</sup> 的 IL-1ra 滴眼液治疗组, 每组 15 只。分别采用原位杂交和免疫组织化学方法检测术后不同时间点各组大鼠角膜移植 IL-1 $\beta$  mRNA 及蛋白表达情况。结果 正常大鼠角膜 IL-1 $\beta$  mRNA 在上皮细胞基底层微量表达, IL-1 $\beta$  蛋白无表达; 术后不同时间点各移植组角膜植片上皮层、基质层均可检测到 IL-1 $\beta$  mRNA 及蛋白的阳性表达。术后同一时间点不同移植组相比: IL-1 $\beta$  mRNA 及蛋白的表达依次减低顺序为生理盐水对照组、10 g · L<sup>-1</sup> CsA 组、50 mg · L<sup>-1</sup> IL-1ra 组, 差异有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 在急性排斥期, 与 10 g · L<sup>-1</sup> CsA 滴眼液组相比, IL-1ra 组降低更明显, 两治疗组间比较差异有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ )。结论 IL-1ra 可通过影响 IL-1 $\beta$  的表达抑制高危角膜移植免疫排斥反应, 减少新生血管生成, 减轻免疫性炎症反应, 延长角膜植片的存活时间。  
**[眼科新进展 2008;28(1):9-12,15]**

角膜病是主要致盲眼病之一。免疫排斥反应, 高危穿透角膜移植术后导致角膜移植失败的首位并发症是 后排斥反应发生率高达 50% 以上<sup>[1]</sup>,



作者简介:周瑾,女,1974年12月出生,汉族,黑龙江哈尔滨人,在读博士研究生。研究方向为角膜病的基础与临床研究。联系电话:020-61643398(O);E-mail:jane5188@163.com

About ZHOU Jin: Female, born in December, 1974. Medical doctor. Major in the study of corneal grafts. Tel: +86-20-61643398(O);E-mail:jane5188@163.com

收稿日期:2007-06-29

修回日期:2007-09-04

本文编辑:付中静

△基金项目:广东省自然科学基金资助(编号:020071)

作者单位:510282 广东省广州市,南方医科大学附属珠江医院眼科(周瑾,陆晓和,党森涛,白浪,张永强);510150 广东省广州市,广州医学院附属羊城医院检验科(陈静平)

通讯作者:陆晓和, E-mail: zhang1934ban@163.com

Received date: Jun 29, 2007

Accepted date: Sep 4, 2007

Foundation item: Natural Science Foundation of Guangdong Province (No:020071)

From the Department of Ophthalmology, Zhujiang Hospital, Southern Medical University (ZHOU Jin, LU Xiao-He, DANG Sen-Tao, BAI Lang, ZHANG Yong-Qiang), Guangzhou 510282, Guangdong Province, China; Department of Clinical Laboratory, Yangcheng Hospital, Guangzhou Medical College (CHEN Jing-Ping), Guangzhou 510150, Guangdong Province, China

Responsible author: LU Xiao-He, E-mail: zhang1934ban@163.com

迄今仍未找到切实有效的防治措施。目前采用的免疫抑制剂如环孢霉素 A (cyclosporin A, CsA) 等虽然在一定程度上可降低移植排斥反应的发生率,但仍存在许多问题。白细胞介素-1 受体拮抗剂(interleukin-1 receptor antagonist, IL-1ra) 是第 1 个被发现的淋巴因子拮抗剂<sup>[2]</sup>。大量动物实验已证实其具有延长角膜移植生存时间的作用,但具体机制尚未明确。我们在建立大鼠高危角膜移植模型的基础上,探讨 IL-1ra 抑制角膜移植免疫排斥反应的作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 供体选用健康清洁级 Wistar 大鼠 23 只,受体为健康清洁级 Spregue Dawley 大鼠 45 只,均为雌性,体重 200 ~ 250 g,鼠龄 2 ~ 3 个月。供、受体大鼠均购自南方医科大学实验动物中心。

**1.2 药物和试剂** 人重组白细胞介素-1 受体拮抗剂(rhIL-1ra),每支 100  $\mu\text{g}$ ,干粉状(北京宝赛生物技术有限公司产品),使用时每支加 2 mL 生理盐水配制成 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ; 10  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA 滴眼液,中山大学中山眼科中心配制;典必殊滴眼液,爱尔康公司提供;大鼠 IL-1 $\beta$  mRNA 原位杂交试剂盒,大鼠 IL-1 $\beta$  免疫组织化学染色试剂盒,均购自武汉博士德生物工程有限公司。

**1.3 手术方法** 健康清洁级 Spregue Dawley 大鼠 45 只,选其右眼用 10-0 丝线在角膜基质 3 个不同象限内各间断缝合 1 针,针距 2 mm,深度达 2/3 角膜基质,当新生血管伸入角膜中央区后拆除缝线。角膜新生血管化增生的 Spregue Dawley 大鼠作为受体,于角膜基质内缝线拆除后 5 ~ 7 d 用于实验。供体为 Wistar 大鼠,腹腔注射体积分数 10% 水合氯醛溶液 4  $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  麻醉,术前消毒,散瞳。常规无菌操作,手术在显微镜下进行。直径 3.5 mm 环钻钻取供体中央区角膜,置于黏弹剂 Healon 中备用。用直径 3.0 mm 环钻钻取受体中央区角膜。将植片置于植床,以 10-0 尼龙线间断缝合 8 针,线结暴露不包埋。术毕散瞳,前房注入 Healon 以形成前房,结膜下注射庆大霉素 2 000 U。缝合睑缘,术后 24 h 剪开。

**1.4 动物分组方法** 随机将 45 只受体大鼠分为 I、II、III 组,每组 15 只。其中 I、II 组大鼠自术后第 1 天起每天结膜囊内滴用 50  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IL-1ra 滴眼液(I 组)、10  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA 滴眼液(II 组)3 次;III 组为生理盐水对照组。受试动物术后均每天滴用典必殊眼液及托品卡胺眼液 3 次。由于手术因素造成感染、前房出血、前房消失或术后 3 d 内发生严重的角膜移植水肿、混浊及破坏,不能归于角膜移植术后免疫排斥反应,应及时剔除并补充实验动物。

**1.5 观察方法** 术后第 1 天起在裂隙灯显微镜下进行临床观察,对角膜混浊、水肿、新生血管 3 项指标进行评分。评分标准:(1)植片混浊:0 分:植片完

全透明;1 分:透明度轻度下降;2 分:透明度中度下降,虹膜血管可见;3 分:虹膜血管窥不清,但瞳孔轮廓可见;4 分:瞳孔轮廓不清。(2)水肿:0 分:无水肿;1 分:中度水肿;2 分:伴有移植物增厚的显著水肿。(3)新生血管:0 分:无新生血管;1 分:新生血管在任何象限伸入达到移植物半径的 25%;2 分:新生血管在任何象限伸入达到移植物半径的 50%;3 分:新生血管在任何象限伸入达到移植物半径的 75%;4 分:新生血管达到移植物中央。3 项评分之和为当天排斥反应指数(response index, RI),当  $\text{RI} \geq 6$  时认为免疫排斥反应发生。

**1.6 植片取材** 在角膜植片急性免疫排斥反应发生前(术后 3 d)各组取材 5 眼,角膜植片急性免疫排斥反应发生期( $\text{RI} \geq 6$ )各组取材 5 眼,急性免疫排斥反应发生后(术后 2 周)各组取材 5 眼。将动物麻醉后摘除眼球,自角膜缘剪下完整角膜。沿角膜中心将角膜一分为二,一半置于 40  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  多聚甲醛溶液固定,另一半置于经 DEPC 处理的 40  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  多聚甲醛溶液固定。常规石蜡包埋,切片备用。

**1.7 原位杂交检测植片** 原位杂交检测试剂盒检测 IL-1 $\beta$  mRNA 表达:脱蜡、暴露 mRNA 核酸片段、后固定、预杂交、洗涤、封闭,滴加生物素化鼠抗地高率,加生物素化过氧化物酶, DAB 显色,苏木素复染,酒精脱水,二甲苯透明、封片;免疫组织化学染色检测植片 IL-1 $\beta$  蛋白表达:脱蜡,微波修复抗原,封闭液封闭,滴加特异性一抗(兔抗大鼠 IL-1 $\beta$ ), 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱过夜,滴加生物素化山羊抗兔 IgG,室温, 20 min,洗涤,滴加 ABC 复合物, DAB 显色,镜下控制反应时间,苏木素轻度复染,脱水、封片。

**1.8 统计学方法** 北航真彩色病理图像分析系统进行图像分析,检测阳性染色的总面积及灰度,计算 PU 值。数据以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,应用 SPSS 10.0 统计软件包进行处理。数据分析用  $t$  检验和单向方差分析(One-way ANOVA),阳性 PU 平均值间的多重比较采用 LSD 法,  $P < 0.01$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

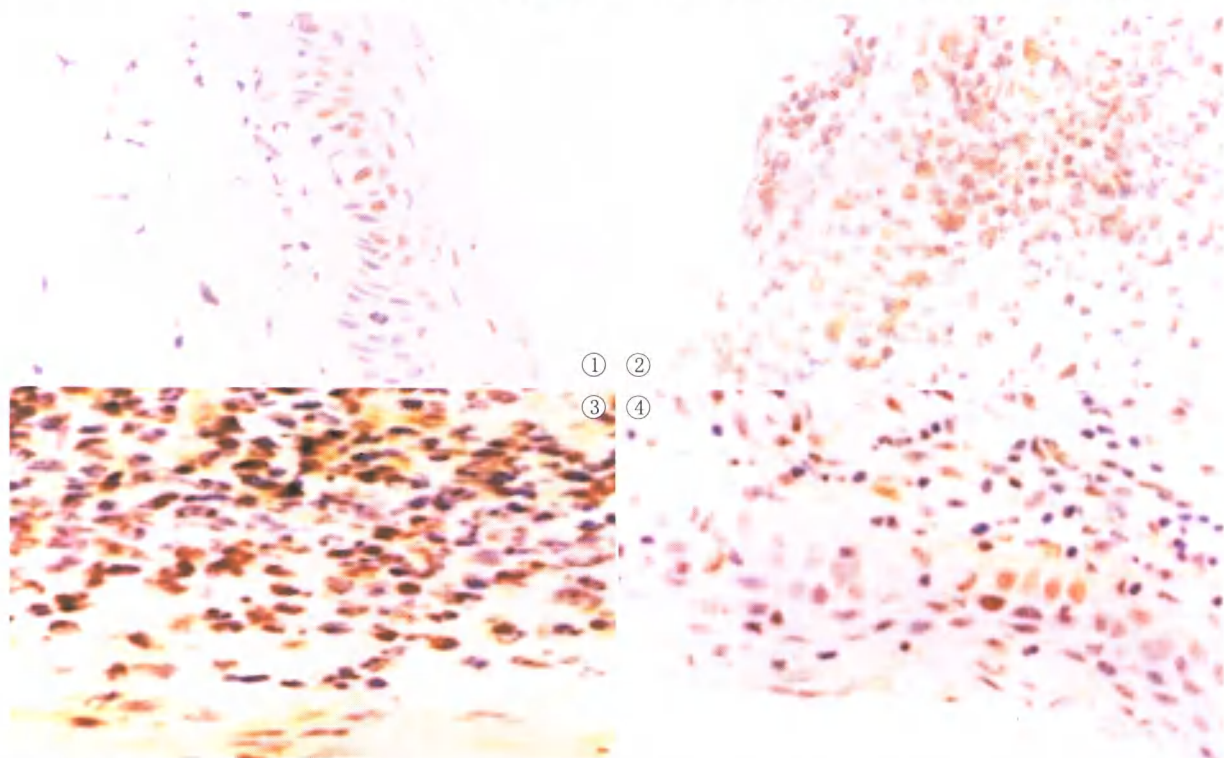
**2.1 活体观察** 大鼠高危角膜移植术后第 1 天,可见角膜轻度水肿和混浊;III 组于第 2 天, I、II 组于术后第 3 ~ 4 天时,角巩膜新生血管开始向角膜生长。术后第 5 天各组角膜基质层均见植床有新生血管,可见虹膜水肿、前房内炎性细胞渗出, I 组前房反应较其他组轻。随着时间延长,角膜移植水肿、混浊、增厚,且逐渐加重。

**2.2 角膜植片中 IL-1 $\beta$  mRNA 表达情况的比较** 术前正常角膜植片中 IL-1 $\beta$  mRNA 在上皮细胞基层微量表达。术后植片的上皮层、基质层均可检测到 IL-1 $\beta$  mRNA 表达,其中 IL-1 $\beta$  mRNA 表达量与免疫排斥反应程度呈正相关。按表达量由大到小排列,依次为 III 组、II 组、I 组(图 1 ~ 4)。在急性排斥

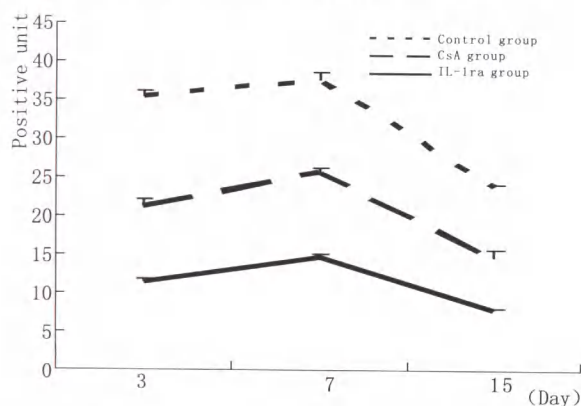
期,与Ⅲ组比较,各实验组植片中 IL-1 $\beta$  mRNA 表达低,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ); I 组与 II 组比较 IL-1 $\beta$  mRNA 表达差异也有显著统计学意义( $P < 0.01$ ,图5)。

**2.3 角膜植片中 IL-1 $\beta$  蛋白表达情况的比较** 术前正常角膜植片中 IL-1 $\beta$  蛋白不表达(图6)。急性

排斥期的Ⅲ组角膜植片中上皮层、基质层、内皮细胞和部分炎性细胞中均表达大量 IL-1 $\beta$  蛋白,移植伤口周围比中央区表达明显;各组相比,Ⅲ组(图7)和 II 组(图8)比 I 组(图9)表达明显,差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ ); II 组和Ⅲ组表达病理学观察减弱,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ,图10)。



**Figure 1** Poor expression of IL-1 $\beta$  mRNA in basal layer of the corneal epithelium in normal rat cornea( $\times 400$ ). **Figure 2** Expression of IL-1 $\beta$  mRNA of cornea in acute-rejection of control group( $\times 400$ ). **Figure 3** Expression of IL-1 $\beta$  mRNA of cornea in acute-rejection of  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA group( $\times 400$ ). **Figure 4** Expression of IL-1 $\beta$  mRNA of cornea in acute-rejection of  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IL-1ra group( $\times 400$ ). **图1** 正常大鼠角膜组织中上皮层底部 IL-1 $\beta$  mRNA 弱表达(DAB 显色, $\times 400$ )。 **图2** 对照组大鼠角膜急性排斥期 IL-1 $\beta$  mRNA 的表达情况(DAB 显色, $\times 400$ )。 **图3**  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA 滴眼液组大鼠角膜急性排斥期 IL-1 $\beta$  mRNA 的表达情况(DAB 显色, $\times 400$ )。 **图4**  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IL-1ra 滴眼液组大鼠角膜急性排斥期 IL-1 $\beta$  mRNA 的表达情况(DAB 显色, $\times 400$ )



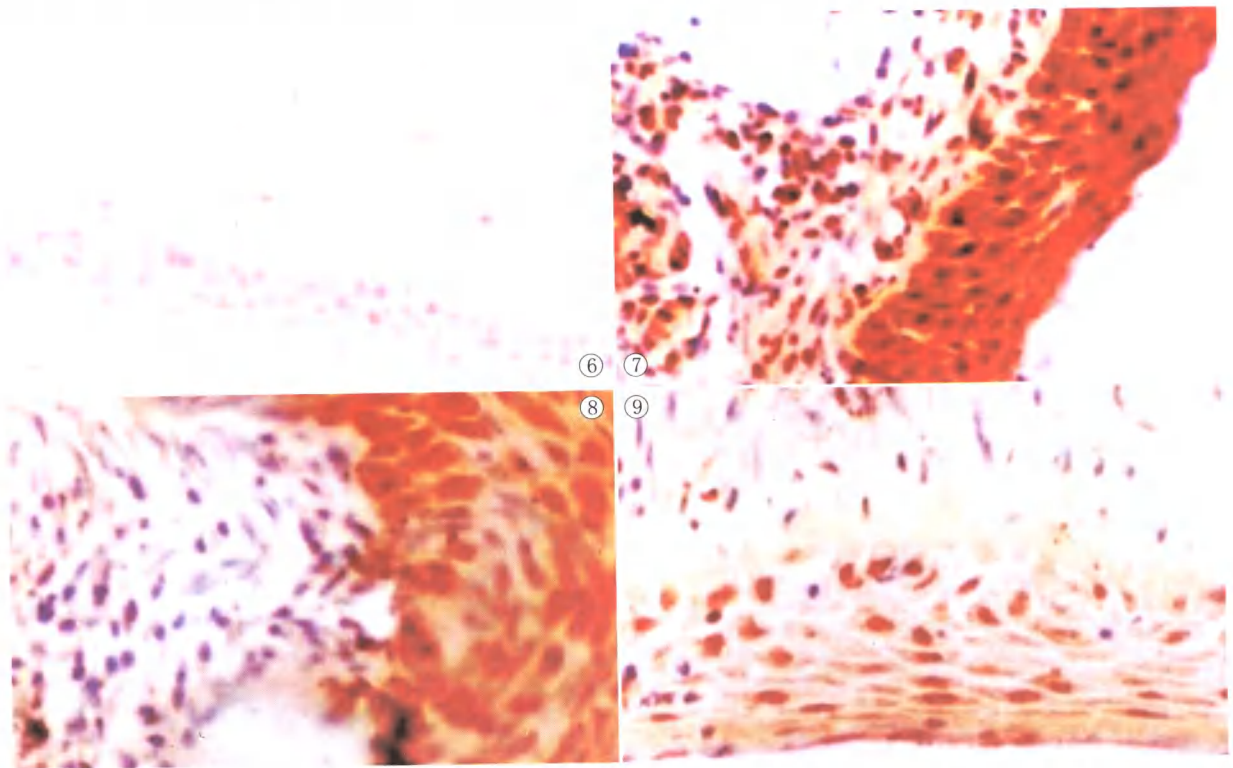
**Figure 5** Average positive unit of IL-1 $\beta$  mRNA in different groups 各组大鼠角膜移植术后不同阶段 IL-1 $\beta$  mRNA 阳性单位 PU 平均值

### 3 讨论

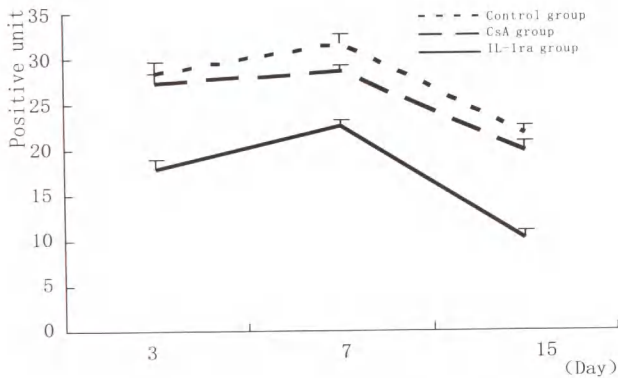
IL-1ra 是迄今为止第 1 个被发现的淋巴因子拮抗剂,是在人单核细胞培养上清液中提纯的蛋白分

子,相对分子质量为 22 000 ~ 25 000,能特异性结合 IL-1 受体,阻断 IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  的生物活性。

Ben-Ezra 等<sup>[3]</sup>将 IL-1 制成聚合物膜,将其植入兔角膜内,发现纳克单位的 IL-1 即可诱导新生血管增生,表明 IL-1 $\beta$  充当了角膜新生血管形成早期的重要介质。而植床血管化是术后排斥反应的首位原因,角膜新生血管可破坏角膜免疫赦免状态,特别是角膜基质层粗大的新生血管,更容易诱发免疫排斥反应。在大鼠角膜移植免疫排斥模型中,应用 RT-PCR 对 IL-1 $\beta$  的 mRNA 进行半定量,发现术后早期所有角膜移植中 IL-1 $\beta$  mRNA 均升高,未发生免疫排斥的同系大鼠角膜移植 7 d 后 IL-1 $\beta$  mRNA 的含量开始下降,而发生免疫排斥反应的角膜移植中 IL-1 $\beta$  mRNA 一直保持在较高水平。在大鼠高危角膜移植排斥反应动物模型中,角膜植片 IL-1 持续保持较高水平。随着分子生物学的研究进展,开发针对排斥反应的关键细胞因子的药物已成为提高手术成功率的重要措施。Caimeliet 等<sup>[4]</sup>对角膜细胞是否



**Figure 6** No IL-1 $\beta$  was found in normal rat cornea ( $\times 400$ ). **Figure 7** Expression of IL-1 $\beta$  lied around the graft in acute-rejection of control group ( $\times 400$ ). **Figure 8** Expression of IL-1 $\beta$  of cornea in acute-rejection of  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA group ( $\times 400$ ). **Figure 9** Expression of IL-1 $\beta$  of cornea in acute-rejection of  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  IL-1ra group ( $\times 400$ ) 图6 正常大鼠角膜组织中 IL- $\beta$  蛋白在正常角膜中不表达 (DAB 显色,  $\times 400$ )。图7 对照组大鼠角膜急性排斥期角膜植片周围 IL- $\beta$  蛋白的表达情况 (DAB 显色,  $\times 400$ )。图8  $10 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  CsA 滴眼液组大鼠角膜急性排斥期 IL- $\beta$  蛋白的表达情况 (DAB 显色,  $\times 400$ )。图9  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 IL-1ra 滴眼液组大鼠角膜急性排斥期 IL- $\beta$  蛋白的表达情况 (DAB 显色,  $\times 400$ )



**Figure 10** Average positive unit of IL-1 $\beta$  in different groups 各组大鼠高危角膜移植术后不同时间点 IL- $\beta$  蛋白阳性单位 PU 平均值

表达 IL-1 $\beta$  的 mRNA 和蛋白进行了检测,发现培养的人角膜上皮细胞、基质纤维细胞和内皮细胞均表达 IL-1 $\beta$  的 mRNA,在人角膜冰冻切片的上皮和内皮层中发现 IL-1 $\beta$  蛋白。本研究在正常大鼠的角膜组织中检测出 IL-1 $\beta$  mRNA 微量表达,在高危角膜移植术后的移植物中,特别是在排斥前期和急性排斥期,IL-1 $\beta$  表达进一步增加,在急性免疫排斥反应后期,IL-1 $\beta$  mRNA 表达降低。表明作为一种重要的炎症前因子,IL-1 $\beta$  积极参与角膜的炎症反应,并对高危角膜移植免疫排斥反应起促进作用<sup>[5]</sup>。角膜损伤后

上皮细胞分泌 IL-1,其主要生物学效应由 IL-1 $\beta$  介导。作为角膜上皮和基质的细胞因子调节环中的关键因子,IL-1 $\beta$  不仅充当角膜新生血管形成早期的重要介质,还介导郎格泽细胞角膜中央移行。供体角膜的郎格泽细胞可以明显提高角膜移植免疫排斥的发生率。IL-1ra 通过介导单核细胞的浸润以及其他炎症细胞的聚集,可以促进抗原的提呈,激发免疫排斥反应,促进某些角膜移植排斥反应的发生。我们对 IL-1 $\beta$  的检测证明它是角膜内重要的炎症因子和免疫排斥反应激发因子。这个实验结果与廖琼等<sup>[6-7]</sup> 研究结果相符。

IL-1ra 与 IL-1 在结构上具有同源性,能够竞争性地与 IL-1 受体结合并且不触发细胞产生任何生物信号从而阻断 IL-1 的生物学效应<sup>[8]</sup>。在某些细胞的 IL-1 自分泌、旁分泌过程中,IL-1ra 在参与微环境的反馈调节中下调 IL-1 的作用。IL-1 在复杂的细胞因子网络的中心位置,它可调控许多细胞因子的作用,由于 IL-1 对其他因子的调控可被 IL-1ra 阻断,所以 IL-1ra 实际上在细胞网络中对 IL-1 的作用起着负调控,共同维持着细胞因子网络的正常稳态。由于 IL-1ra 是机体内正常状况下拥有的细胞因子,理论上不具有较大的毒副作用,实验研究中未发现任何副作用。

(下转第 15 页)

表1 SMP-30 在各项临床指标中的表达情况

Table 1 Expression of SMP-30 in different clinical indexes

		n	Expression level of SMP-30			
			-	+	++	+++
Sexuality	Male	32	3	5	17	7
	Female	25	4	2	12	7
Age (years)	≤50	27	2	3	12	10
	≥50	30	5	4	17	4

### 3 讨论

SMP-30/regucalcin 为一种钙结合蛋白质, 但该蛋白和以往报道的钙结合蛋白的结构不同, 它没有一般钙结合蛋白结构中所具有的 EF 模序 (helix loop helix motif), 表明 SMP-30/regucalcin 代表了一种新型的钙结合蛋白质<sup>[5]</sup>。它在体内作为钙信号转导蛋白, 调节体内细胞的增生及多种代谢过程。在其功能的研究上发现 SMP-30 的蛋白质含量与组织成熟、老化及细胞增生有关。它具有调节活化钙泵、GTP 酶, 抑制 DNA、RNA 及蛋白质的合成, 抑制细胞增生、凋亡, 以及抗氧化等功能<sup>[6]</sup>。动物实验证明 SMP-30 作为一种有机磷酸酯与糖酵解的磷酸戊糖途径和维生素 C 的合成密切相关, 其表达随年龄增加而减少是由于氧化应激所致<sup>[7]</sup>。

本实验用免疫组织化学方法测定了 SMP-30 在透明晶状体与白内障晶状体上皮细胞的表达情况, 发现 SMP-30 在白内障晶状体上皮细胞的表达较透明晶状体弱, 说明白内障的发生伴随有晶状体上皮细胞 SMP-30 含量的减少。白内障的发生可能与

SMP-30 含量的减少或活性的下降引起晶状体钙离子失衡、抗氧化功能下降以及维生素 C 的合成不足有关。这与陈莺<sup>[8]</sup>的报道一致。而在正常晶状体 SMP-30 仅表达于外层晶状体上皮细胞, 内层老化的带状晶状体细胞均未见表达。间接说明了 SMP-30 的年龄相关性, 此次实验未得出 SMP-30 的表达随年龄增加而减少的结论, 可能与样本含量不够大有关。至于 SMP-30 在维持晶状体正常生理功能中所起的作用以及具体作用机制有待进一步研究。

### 参考文献

- 1 徐国兴, 胡建章, 林 鸿, 周琳英, 王婷婷, 郑学栋, 等. 年龄相关性白内障晶状体上皮细胞的超微结构研究[J]. 国际眼科杂志 2004;4(4):631-632.
- 2 Shimokawa N, Yamaguchi M. Molecular cloning and sequencing of the cDNA coding for a calcium-binding protein regucalcin from rat liver[J]. *FEBS Lett* 1993;327(3):251-255.
- 3 周素芳, 谢小薰, 蓝 玲, 赵飞兰, 黎 鹏, 范 蓉, 等. 肝癌相关抗原 SMP30 羧基端基因的构建、表达及血清学分析[J]. 中国免疫学杂志 2004;20(12):821-824.
- 4 邢传平, 刘 斌, 董 亮. 免疫组织化学标记结果的判断方法[J]. 中华病理学杂志 2001;30(4):318.
- 5 Fujita T, Shirasawa T, Maruyama N. Isolation and characterization of genomic and cDNA clones encoding mouse senescence marker protein-30 (SMP30)[J]. *Biochim Biophys Acta* 1996;1308(1):49-57.
- 6 周素芳, 罗国容. 衰老标记蛋白-30 及其研究进展[J]. 科学技术与工程 2004;4(8):725-731.
- 7 Kondo Y, Inai Y, Sato Y, Handa S. Senescence marker protein 30 function as gluconolactonase in L-ascorbic acid biosynthesis, and its knockout mice are prone to scurvy[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103(15):5723-5728.
- 8 陈 莺. 白内障发病机制及预防治疗的研究进展[J]. 眼科新进展 *Yanke Xinjinzhan* 2005;25(2):190-193.

### (上接第 12 页)

不同的免疫抑制剂可以通过不同途径影响移植细胞因子的表达。在我们的研究中, IL-1ra 治疗组较生理盐水对照组和 CsA 治疗组, IL-1 $\beta$  mRNA 及其蛋白的表达明显减弱, 差异有显著统计学意义 ( $P < 0.01$ ); CsA 组表达较生理盐水组表达病理学观察减弱, 经统计学分析, 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。说明 IL-1ra 可以通过抑制高危角膜移植 IL-1 $\beta$  的表达发挥作用, 而 CsA 对高危角膜移植 IL-1 $\beta$  的表达影响较小。IL-1 $\beta$  mRNA 及其蛋白表达的同步性再一次说明 IL-1ra 可以结合于靶细胞膜上的特异性受体, 改变靶细胞中编码相应蛋白质 mRNA 的表达。即 IL-1ra 在 mRNA 水平影响高危角膜移植细胞因子的表达, 降低炎症细胞浸润, 抑制免疫排斥反应。这有助于进一步揭示移植免疫机理。作为天然免疫抑制剂, IL-1ra 体内副作用小, 对该免疫抑制剂的不断深入研究将为临床进一步提高角膜移植成功率开辟更广阔的前景。

### 参考文献

- 1 Coster DJ. Mechanisms of corneal graft failure the erosion of corneal privilege[J]. *Eye* 1989;3(2):151-153.
- 2 Arend WP, Joslin FG, Massoni RJ. Effects of immune complexes on production by human monocytes of interleukin 1 or an interleukin 1 inhibitor[J]. *Immunology* 1985;134(6):3868-3875.
- 3 Ben-Ezra D, Hemo I, Maftzir G. *In vivo* antigenic activity of interleukins[J]. *Arch Ophthalmol* 1994;108(5):573-576.
- 4 Caimeliet P, Collen D. Molecular analysis of blood vessel formation and disease[J]. *Am J Physiol* 1997;237(5):2091-2104.
- 5 袁 进, 陈家祺, 刘祖国, 王智崇, 周世有. IL-1 基因修饰角膜内皮细胞及其表达[J]. 眼科新进展 *Yanke Xinjinzhan* 2006;26(1):2-6.
- 6 廖 琼, 刘 翔. IL-1 受体拮抗剂防治大鼠角膜移植排斥反应的实验研究[J]. 眼科新进展 *Yanke Xinjinzhan* 2004;24(5):364-365.
- 7 郭金华, 查家华, 陈国苍. IL-1ra 对大鼠角膜移植免疫排斥反应的抑制作用[J]. 眼科研究 2001;19(3):195-197.
- 8 Hannum CH, Wilcox CJ, Arend WP, Joslin FG, Dripps DJ, Heimdal PL, et al. Interleukin-1 receptor antagonist activity of a human interleukin-1 inhibitor[J]. *Nature* 1990;343(6256):336-340.