

Los ojos y su compañero, el sistema inmunológico: La conferencia del Proctor en 2019

Jerry Y. Niederkorn

Departamento de Oftalmología, Centro Médico Southwestern de la universidad de Texas, en Dallas, Texas en los EE. UU.

Correspondencia: Jerry Y. Niederkorn, departamento de Oftalmología, Centro Médico Southwestern de la Universidad de Texas, 5323 Harry Hines Boulevard, Dallas, TX 75390, USA; Jerry.Niederkorn@UTSouthwestern.edu.

Referencia: Niederkorn JY. The eyes see eye to eye with the immune system: The 2019 Proctor lecture. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2019;60:4489-4495. <https://doi.org/10.1167/iovs.19-28632>

El ojo humano tiene un diámetro aproximado de dos centímetros y medio y está compuesto por un impresionante conjunto de células, de las cuales la mayoría no se hayan en ninguna otra parte del cuerpo. Las neuronas de la retina procesan señales por el nervio óptico a un rango equivalente a más de mil millones de bits de datos informáticos por segundo. ¹ El ojo es una extensión del cerebro y tal como este, requieren una asombrosa cantidad de oxígeno y energía. Como ambos órganos tienen propiedades regenerativas limitadas, en el caso de que el cerebro o el ojo se inflamen, las consecuencias para la supervivencia serían devastadoras. De este modo, ambos órganos hacen esfuerzos extraordinarios para reducir inflamaciones inmunológicas, a este fenómeno se le llama "privilegio inmune".

Una de las primeras demostraciones del privilegio inmune fue registrado hace más de 150 años por el oftalmólogo holandés van Dooremaal. ² En un intento de inducir cataratas experimentales, van Dooremaal colocó una variedad de objetos foráneos en los ojos de animales de laboratorio y, entre otras cosas, observó que la piel de ratón trasplantada a la cámara anterior del ojo de perro sobrevivió más tiempo. Con el primer informe de un trasplante de córnea humana exitoso en 1950 se ofrecieron más pruebas demostrando que el ojo ofrece un terreno fértil para los trasplantes³. Esto ocurrió antes incluso de que se caracterizara el sistema inmunológico mamífero y las drogas anti rechazo estuvieran cerca de ser una realidad que llegó en los años sesenta con los primeros trasplantes exitosos de corazón y de riñón. No sería hasta el año 1948 que las propiedades inmunológicas únicas del ojo fueron valoradas plenamente por el eminente inmunólogo Peter Medawar que observó que los injertos piel de los conejos sobrevivían más tiempo en la cámara anterior de los conejos alogénicos. ⁴ Al reconocer el verdadero significado de este hallazgo, Medawar acuñó el término privilegio inmune para indicar que el ojo estaba exento de las leyes de la inmunología del trasplante. ⁴ La primera explicación del privilegio inmune en la cámara anterior se basaba en la aparente ausencia de vasos linfáticos permeables para drenar el interior del ojo; se creía que esta condición prevenía que los antígenos externos expresados en los aloinjertos trasplantados a la cámara anterior llegaran a los ganglios linfáticos regionales y que provocaran una respuesta inmunológica. Sin embargo, estudios que fueron publicados décadas más tarde revelaron que la cámara anterior sí emitía drenaje linfático. ⁵ Pero en la cámara anterior el drenaje de los vasos linfáticos es mucho menor que en otras regiones del cuerpo, a esta condición se le llama paucilinfáticos.⁶

¿CUÁLES SON LOS MECANISMOS DEL PRIVILEGIO INMUNE?

El privilegio inmune es el producto de múltiples procesos anatómicos, psicológicos e inmunoreguladores que restringen

la inducción y la expresión de la inflamación inmuno-mediada. ^{7,8} Estos incluyen (1) las propiedades anatómicas únicas del ojo, (2) moléculas inmunodepresoras y anti inflamatorias en los fluidos oculares y células que recubren el interior del ojo y (3) células T reguladoras que suprimen la inducción y expresión de la inflamación inmunomediada. Muchos de los vasos sanguíneos en el segmento anterior del ojo no tienen fenestración, por ello limitan la extravasación de las macromoléculas y los leucocitos de los vasos sanguíneos a la cámara anterior. ^{9,10} Tal como ha sido mencionado previamente, se creía que la cámara anterior carecía de vasos linfáticos, que prevenían el movimiento de antígenos y de células presentadoras de antígenos del interior del ojo a los ganglios linfáticos regionales.

A pesar de que la mayoría de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad están expuestas en la superficie de la mayoría de las células nucleadas en el cuerpo, estas están o notablemente ausentes o débilmente presentes en las células en el ojo que poseen pocas o ningunas propiedades regenerativas como el endotelio corneal y la retina neural. ¹¹⁻¹³ Las moléculas de MHC de clase I exponen epítomos víricos y sirven como bases de acoplamiento para los linfocitos T CD8+ que matan las células infectadas con virus. Por consiguiente, la ausencia de moléculas de MHC de clase I hacen invisible el endotelio corneal y las células de la retina a los efectos destructivos de los linfocitos T específicos para virus. Aunque esta condición protege las células del endotelio corneal y la retina neural de una lesión de los linfocitos T, esta crea un punto muerto inmunológico potencial para infecciones víricas. La estrategia de silenciar la expresión de moléculas de MHC de clase I también la emplean otros tejidos y órganos que no pueden tolerar los linfocitos T descarriados; por ejemplo, los trofoblastos vellosos humanos protegen al feto alogénico del ataque de linfocitos T aloespecíficos y es crucial para mantener el privilegio inmune en la interfaz materno-fetal. ⁷ El humor acuoso que ocupa la cámara anterior es una mezcla de moléculas inmunodepresoras y antiinflamatorias que atenúan la inflamación inmunomediada dentro del ojo y también promueve la generación de linfocitos T reguladores que reprimen la actividad de las células-T en el ojo. ¹⁴⁻¹⁶ Las células que recubren la cámara anterior contienen moléculas de membrana plasmática como FasL, PD-L1 o el ligando introductor de la apoptosis relacionado con el factor de necrosis tumoral que pueden o inducir la apoptosis o reducir la activación de las células inmunológicas que entran por el ojo. ¹⁷⁻²⁰

Los antígenos que entran a la cámara anterior, ya sea por inyección o desprendidos del endotelio corneal durante la queratoplastia penetrante, inducen una alteración de la respuesta inmune convencional denominada desviación inmunitaria a la cámara anterior (ACAID). ²¹ La ACAID se caracteriza por ser una desviación de la respuesta inmune prototípica a una en la que la inmunidad de las células T

concretamente la hipersensibilidad retardada (DTH) está activamente suprimido mientras que se preservan las respuestas de anticuerpos, especialmente los anticuerpos sin fijación del complemento. Curiosamente, la ACAID se asocia estrechamente con la supervivencia del aloinjerto corneal y maniobras que previenen que la inducción la ACAID (por ejemplo: esplenectomía) lleve invariablemente al rechazo de los aloinjertos corneales.²²⁻²⁴

¿CUÁL ES LA RAZÓN DE SER DEL PRIVILEGIO INMUNE?

¿Por qué está el ojo diseñado para amparar un punto ciego inmunológico? Vienen tres explicaciones a la mente: La primera sugiere que, al limitar la inflamación el privilegio inmune, permite la transmisión ilimitada de imágenes de luz del ambiente exterior a la retina y así preserva la visión. La segunda explicación plantea que el endotelio corneal y los elementos de la retina neural son mitóticos y no pueden regenerarse; la inflamación descontrolada de estos tejidos puede llevar a ceguera. Cuando mi mentor Wayne Streilein y yo describimos la ACAID por primera vez hace 35 años, propusimos que el desajuste selectivo de la DTH por ACAID era una adaptación a la inflamación inmune silenciosa que era notoria por producir necrosis isquémica y gran daño a las células vecinas.²⁵ En el ojo, una inflamación irrefrenable como esta causaría ceguera. Por ejemplo, las células de un tumor inmune genético de ratón que no consiguen inducir las respuestas ilícitas robustas ACAID de la DTH las cuales se deshacen de estos tumores, pero culminan en necrosis isquémica y una completa atrofia del globo ocular, que se denomina ptisis bulbi.²⁶

El virus del herpes simple (HSV) es un buen ejemplo de porque en determinadas circunstancias es beneficioso eliminar el privilegio inmune. Hay estudios de el HSV en ratones que demuestran que la replicación vírica no es causa directa de enfermedades corneales; en cambio, el daño del tejido corneal y la ceguera ocurren generalmente por la respuesta inmunológica a los antígenos víricos en la córnea. A mitad de los años sesenta, los estudios de Metcalf demostraron que las infecciones corneales del HSV en ratones atímicos desnudos, que no pueden desarrollar inmunidad normal de las células T, aclaran la córnea.²⁷ Así, los efectos cegadores de las infecciones víricas del HSV de la cornea dependen de las células T. Sin embargo, hay un gran coste por la preservación de la visión en los ratones deficientes de linfocitos T, ya que terminan muriendo de encefalitis vírica. Así, existe un compromiso entre el ojo y el sistema inmunológico en el que se perciben a los microorganismos que hacen frente al ojo por el sistema inmunológico y se termina decidiendo si suponen una amenaza para la supervivencia o si son inofensivos.

Alguno de los hechos que hacen activar una alarma para eliminar el privilegio inmune y activar una respuesta inmunológica robusta, se transmite por los patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) que están presentes en las bacterias y los virus y están reconocidos como receptores de tipo Toll (TLRs), que están expresados en las células del sistema inmunológico innato como los macrófagos y las células dendríticas. La unión de receptores de tipo Toll pone al sistema inmunológico innato en marcha y activa el aparato inmunitario adaptativo, que elimina en definitiva el patógeno del ojo. Sin embargo, las grandes respuestas inmunológicas adaptativas antimicrobianas pueden producir daños colaterales extensivos a las células de la córnea. En adición a los elementos microbóticos, endógenos, moléculas como el neuropéptido sustancia P pueden finalizar el privilegio inmune (pronto se desarrollará sobre este aspecto).

¿INCLUSO LOS RATONES CIEGOS PUEDEN DISTINGUIR ENTRE EL DÍA Y LA NOCHE?

Ya se ha propuesto que el privilegio inmune está diseñado principalmente para preservar la visión al eliminar la inflamación dentro del ojo.²⁵ Sin embargo, puede que el privilegio inmune tenga un papel igual de importante al preservar el ritmo circadiano. Hay evidencia creciente que indica que el ritmo circadiano afecta a casi todos los aspectos de la biología humana e, incluso, influencia nuestro microbioma.²⁸⁻³¹ La interrupción de los ritmos circadianos se ha asociado a numerosas enfermedades incluyendo inflamación, obesidad, depresión, trastorno de la bipolaridad y trastorno afectivo estacional. Se reconoce que el ojo juega un papel principal en el mantenimiento del ritmo circadiano, que está coordinado por un reloj maestro localizado en el núcleo supraquiasmático (SCN) en el hipotálamo.³² Los ojos son la única entrada de luz al núcleo supraquiasmático y para el foto entrenamiento.³² Aunque los bastones y conos afectan al foto entrenamiento, no se requieren para mantener los ritmos circadianos normales. Así, los ratones que son homocigóticos por el gen de degeneración genital carecen de un repertorio funcional de conos y bastones y están completamente ciegos, aún así tienen respuestas circadianas normales a la luz.³³ La preservación del foto entrenamiento en el gen de degeneración retinal de ratones se debe a la subpoblación de las células ganglionares de retina (RGC) que no están afectadas por la mutación del gen de degeneración retinal y expresan melanopsina, un fotopigmento no formador de imágenes que mantiene un ritmo circadiano normal.³⁴⁻³⁶ Sin embargo, enuclea los ojos del ratón con gen de degeneración retinal elimina las RGC y las respuestas circadianas.³³ Así, la preservación de la integridad de los conos y bastones retinales y las RGC es crucial, no solo para la visión, sino, también para preservar el ritmo circadiano.

Cabe destacar que la ACAID protege el ojo de enfermedades inflamatorias oculares experimentales. Por ejemplo, inyectar el antígeno retinal S en la cámara anterior induce la ACAID, mitiga la inflamación de la retina (por ejemplo la uveítis autoinmune sistémica) y preserva las retinas de los ratones.³⁷ Las investigaciones por Ferguson y sus compañeros de trabajo demuestran que para la inducción de la ACAID se necesita exposición a la luz.^{38,39} Aquellos ratones que estaban a oscuras y ostensiblemente zafados de foto entrenamiento normal, resistieron la inducción de la ACAID. ¿Podría ser que la necesidad de luz por la inducción de la ACAID es una adaptación para proteger los elementos retinales de daños inmunes y es un elemento esencial para preservar el ritmo circadiano (que también requiere exposición a la luz)?

LOS ALÓGRAFOS CORNEALES SE BENEFICIAN DEL PRIVILEGIO INMUNE

La trasplatación corneal es la forma de trasplatación de tejidos sólidos más antigua, más común y, posiblemente, la más exitosa. Zirm llevó a cabo el primer trasplatación corneal exitoso hace un siglo, cuando ni siquiera se contemplaban las drogas anti-rechazo y casi medio siglo antes del descubrimiento de los antígenos de trasplante.³ En los subsiguientes 100 años, han emergido los trasplantes corneales como la forma de trasplatación de tejidos sólidos más común y, seguramente, la más exitosa. En un primer escenario sin complicaciones, más de 90% de los trasplantes corneales serán exitosos, incluso sin la correspondencia de la histocompatibilidad de antígenos leucocitarios humanos (HLA) y sin el uso de drogas sistémicas contra el rechazo.⁴⁰ Muchos de los factores que contribuyen a la existencia del privilegio inmune en la cámara anterior son también responsables del notable éxito de los trasplantes corneales e incluyen (1) la ausencia de los vasos linfáticos drenando el injerto corneal,

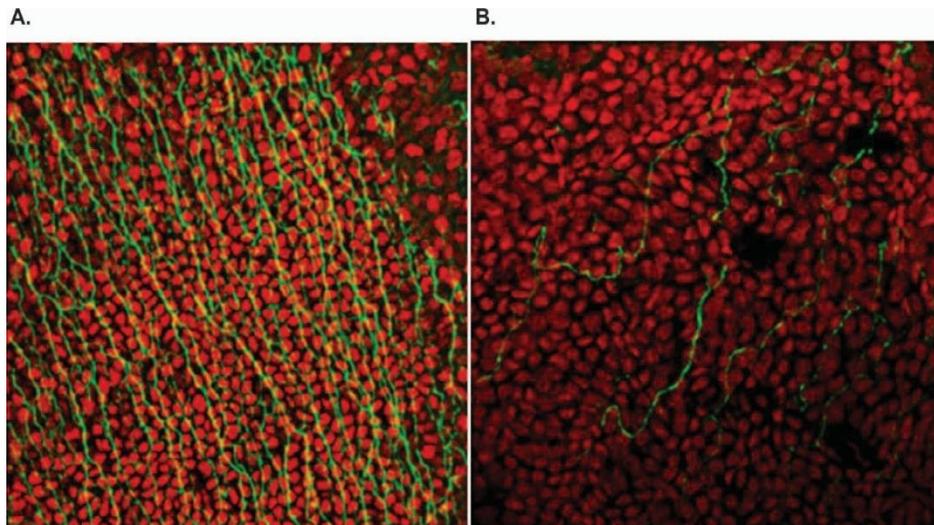


FIGURA 1. Disposición de los nervios corneales 24 horas después de trepanar la cornea del ratón. (A) Los nervios corneales en los ojos de cepas de ratones BALB/c se tiñeron con anticuerpos marcados con la tubulina anti- β (verde). (B) Disposición de los nervios corneales a las 24 horas de hacer una incisión superficial en el epitelio corneal utilizando un trépano de 2.0 milímetros.

(2) la inducción de las células Treg que suprimen las respuestas efectoras inmunes de antígenos y (3) el silenciamiento y purificación de elementos inmunes en la interfaz del injerto.⁴¹⁻⁴³ Todas estas tres condiciones deben estar presentes para el éxito a largo plazo de los trasplantes corneales. La supervivencia de los aloinjertos corneales está en peligro en las condiciones en las que los vasos linfáticos periféricos invaden la cama del injerto corneal, que culmina invariablemente en el rechazo inmune de los aloinjertos corneales.⁴¹⁻⁴³ Una cantidad convincente de evidencia en modelos roedores de la queratoplastia penetrante indica que la supervivencia del aloinjerto corneal se apoya fuertemente en la generación del CD4⁺ β CD25⁺ Tregs que suprimen activamente las respuestas inmunes dirigidas a los antígenos con histocompatibilidad foránea expresada en los trasplantes corneales.⁴⁴⁻⁴⁶ Los estudios en roedores han revelado la importancia de los ligandos de apoptosis FasL y PD-L1 que están expresados en el epitelio corneal y en el endotelio y sirven para silenciar los linfocitos inmunes en la interfaz del injerto.^{18,19,47} Los injertos corneales fallan en expresar ya sea FasL o PD-L1 funcionales invariablemente experimentar el rechazo inmune. Aunque el privilegio inmune no evolucionó en las mentes de los cirujanos oftalmológicos, los trasplantes corneales son aún así los beneficiarios del privilegio inmune. La ausencia de vasos linfáticos y sanguíneos en la cama del injerto corneal se ha reconocido como un factor importante del éxito de los trasplantes corneales tanto en humanos como en animales experimentales. Aunque se pensaba que la presencia de vasos sanguíneos en la cama del injerto facilitaba la egresión de la histocompatibilidad de antígenos expresados en los trasplantes corneales al aparato inmune, estudios en animales han dado evidencia convincente de como los vasos linfáticos que acompañan los vasos sanguíneos son el canal principal para llevar antígenos y células con antígenos de huésped a los nódulos linfáticos regionales. Bloquear los vasos linfáticos selectivamente mientras se preservan los vasos sanguíneos en la cama del injerto corneal tiene un gran efecto en la prevención del rechazo inmune de los aloinjertos corneales y confirma que los vasos sanguíneos no tienen un papel importante en el fomento del rechazo de injertos corneales.⁴⁸⁻⁵⁰ Enfermedades preexistentes como la queratitis por el virus del herpes simple y la dermatitis atópica son factores de riesgo para el rechazo inmune de trasplantes

corneales.⁴⁰ Se ha demostrado con ratones modelo con queratoplastia penetrante que la presencia de asma alérgico o conjuntivitis alérgica producen un aumento abrupto en la incidencia y el tiempo del rechazo de aloinjertos corneales.⁵¹⁻⁵³ Se descubrió que la citoquina IL-4 por linfocitos Th2; que se elabora, ya sea en la conjuntivitis alérgica o en el asma alérgico; inhabilitaba los linfocitos T reguladores que suelen inducirse por los aloinjertos corneales ortotópicos.⁵⁴ Así, la derogación del privilegio inmune de los aloinjertos corneales que ocurre en enfermedades alérgicas es un efecto sistémico, no local, que desacople la función supresora de los linfocitos T reguladores inducidos por los aloinjertos corneales. La mayor incidencia de rechazo se da en pacientes a los que se les ha realizado dos o más trasplantes corneales.⁵⁵ La incidencia de rechazo aumenta a un 80% en aquellos pacientes con tres trasplantes realizados.⁵⁶ A primera vista, se podría concluir diciendo que la incidencia de rechazo en pacientes a los que se les ha realizado dos o más trasplantes corneales era resultado de la sensibilización inmunológica de los antígenos foráneos histocompatibles en los previos trasplantes corneales. Sin embargo, en los Estados Unidos, el ajuste de los antígenos leucocitarios humanos no se realiza rutinariamente y los botones corneales se seleccionan basados en la calidad del injerto del endotelio sin importar la histocompatibilidad del genotipo del donante. De este modo, la posibilidad de encontrarse con la misma cantidad de aloantígenos en segundos o terceros trasplantes sería remota. La disponibilidad de un modelo ratón de penetrar la queroplastia allanó el camino para estudios prospectivos para explorar este problema en un momento prospectivo.

PÉRDIDA SIMPÁTICA DEL PRIVILEGIO INMUNE (SLIP)

Utilizamos un ratón modelo bien caracterizado por queratoplastia penetrante para examinar la hipótesis de que un primer trasplante corneal elimina el privilegio inmune para injertos subsecuentes, incluso aquellos de donantes genéticamente distintos. La cepa de ratón de laboratorio C57BL/6 difiere de la cepa BALB/c en toda su histocompatibilidad genética y, así, los trasplantes intercambiados entre estas dos cepas de ratones imitan la condición que ocurre típicamente en la queratoplastia penetrante. En este modelo de ratón, aproximadamente un

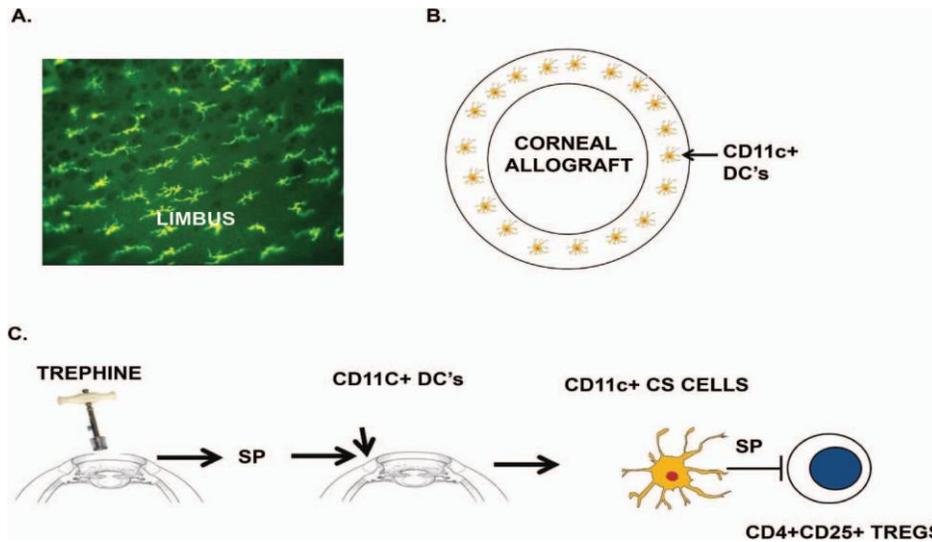


FIGURA 2. El seccionamiento de los nervios corneales lleva a la generación de células contrasupresoras que desactivan las células reguladoras T. (A) Las células dendríticas del tipo MHC III β residen en el epitelio corneal en el limbo. (B) Los aloinjertos corneales ortotópicos se trasplantan a las células dendríticas CD11c β en el limbo. (C) La ablación de los nervios corneales con un trépano lleva a la emisión de una sustancia P que transforma las células dendríticas CD11c β residentes a células Schwann (CS) CD11c β que elaboran sustancia P adicional, que inhabilitan el linfocito T regulador CD4 β .

50% de los aloinjertos corneales de C57BL/6 experimentan rechazo inmune en ratones BALB/c cándidos. En pacientes, el resultado suele ser de un rango de aceptación de 90% en primeros trasplantes corneales sin complicaciones, pero el rango de aceptación en ratones es del 50%. Cabe mencionar que la queroplastia en pacientes humanos se trata rutinariamente con corticosteroides, mientras que en los estudios con ratones no se emplean esteroides. Sin embargo, cuando se aplican tópicamente, los esteroides se utilizan en los estudios de la queroplastia penetrante en ratones; en estos el rango de aceptación es superior al 90%, recapitulando así el homólogo humano (Niederkorn et al., unpublished data, 2019)

Para poner a prueba los primeros trasplantes corneales sobre los efectos de los injertos corneales posteriores, trasplantamos corneas de donantes C3H a ojos de ratones BALB/c. Sesenta días después, los aloinjertos corneales C57BL/6 fueron trasplantados a los ojos izquierdos que los ratones a los que se les trasplantaron las corneas de donantes C3H en los ojos opuestos. Los ratones C57BL/6 y los C3H difieren de todas las histocompatibilidades de locus genéticos y no comparten ningunos antígenos histocompatibles que puedan "inmunizar de manera cruzada" a los ratones BALB/c que habían recibido previamente los aloinjertos corneales de donantes C3H. De los primeros aloinjertos corneales C57BL/6, el 50% fueron rechazados en los pacientes BALB/c; sin embargo, de aquellos que recibieron aloinjertos corneales C3H en su ojo derecho rechazaron el 100% de los aloinjertos corneales C57BL/6 en el ojo izquierdo.⁵⁷ Esto es considerablemente diferente del rechazo del 50% de los aloinjertos corneales C57BL/6 que se observan en los primeros receptores BALB/c. La posibilidad de que este crecimiento dramático sea un resultado de la sensibilización inmune y que represente una respuesta es remota, ya que los ratones BALB/c, C57BL/6 y C3H no comparten ningunos antígenos histocompatibles y, así, la posibilidad de "la inmunización de manera cruzada" se obvia. Para confirmar esto en un escenario más riguroso, las corneas BALB/c se trasplantaron a los ojos derechos de

ratones singénicos BALB/c. Ya que la cepa de ratón BALB/c ha sido sujeta a la endogamia por más de medio siglo, la histocompatibilidad del genotipo es homogénea y, así, estos injertos no se reconocen como foráneos por los ratones BALB/c y son llamados "singénicos". Sesenta años después de recibir injertos corneales singénicos en los ojos derechos, esos mismos ratones BALB/c recibieron un trasplante de aloinjertos corneales C57BL/6 en el otro ojo. Más del 90% de los aloinjertos corneales de C57BL/6 fueron rechazados por los los receptores que albergaban injertos corneales singénicos de BALB/c en sus ojos opuestos.⁵⁷ Estos resultados revelan dos visiones importantes; para empezar, el procedimiento del trasplante y la no presencia de antígenos foráneos histocompatibles eliminan el privilegio inmune para un segundo trasplante. En segundo lugar, la pérdida del privilegio inmune se extiende al otro ojo sin tocar. Esta SLIP (pérdida simpática del privilegio inmune) es reminiscente de una condición mencionada previamente: la oftalmía simpática (SO) que suele ocurrir en pacientes con heridas penetrantes en un ojo que llevan a la inflamación del otro "simpatizando" el ojo.⁵⁸ La oftalmía simpática era reconocida en la antigua Grecia y se mencionó en los escritos de Hippocrates.⁵⁹ Aún así la oftalmía simpática no se llega a entender, pero se cree comúnmente que el traumatismo en un ojo hace que los antígenos retinales se liberen obteniendo una respuesta inmune sistémica que afecta ambos ojos, incluyendo el ojo que no estaba dañado. Sin embargo, al contrario que la oftalmía simpática, la SLIP no es el resultado de la sensibilización por los antígenos expresados en el trasplante corneal. Aprenderemos más tarde que la SLIP era un antígeno no específico y era el resultado de un discapacitante de los Tregs que son necesarios para la supervivencia de los aloinjertos corneales.^{60,61} ¿Qué pasa con la queratoplastia penetrante que rechaza el privilegio inmune a trasplantes corneales posteriores? Vienen dos explicaciones a la mente: La primera es la más reconocida, esta observa como al suturar la cornea se induce un crecimiento de los vasos linfáticos y prácticamente garantiza que los injertos corneales situados en la cama del injerto vascularizada experimentarían rechazo

inmune.^{48,50,62} Aunque, parece improbable que suturar un ojo pueda afectar al crecimiento de los vasos linfáticos en el otro ojo, aún así pusimos a prueba esta hipótesis. Como se anticipó, la suturación de los ojos derechos de ratones BALB/c produjo la vascularización corneal exuberante en ese ojo, pero no tuvo efecto en el destino de los aloinjertos corneales C57BL/6 colocados en el ojo izquierdo.⁵⁷ Esto supuso que la explicación más lógica para la SLIP fuera el paso de la incisión quirúrgica de la queratoplastia penetrante. En consecuencia, utilizamos un trépano quirúrgico de 2.0 milímetros para hacer incisiones circulares superficiales en el epitelio corneal del ojo derecho y pusimos un aloinjerto corneal C57BL/6 en el ojo izquierdo. En múltiples experimentos observamos que del 90% al 100% de los trasplantes de aloinjertos corneales en estas condiciones experimentaron rechazo inmune. ¿Qué hace que las incisiones superficiales en las corneas anulen el privilegio inmune en ambos ojos? Una de las características más impresionantes de la cornea es su inervación pesada. Se estima que la densidad de los nervios corneales es 300 veces más grande que la de la piel.⁶³ Planteamos la hipótesis de que el daño de los nervios corneales es lo que elimina el privilegio inmune en ambos ojos. Encontramos que las incisiones circulares causaban una disipación rápida de los nervios corneales (Fig. 1) mientras que las incisiones con forma de "X" tuvieron un efecto menor en los nervios corneales. Además, las incisiones con forma de "X" en un ojo no tuvieron efecto en la supervivencia de los aloinjertos corneales en el ojo opuesto, mientras que las incisiones circulares llevaron a un rechazo del 90% de los aloinjertos corneales en el ojo opuesto.⁵⁷ Los neuropéptidos son conocidos por su gran efecto en el privilegio inmune en la cámara anterior.¹⁵ Aquí es cuando tomamos conciencia de los estudios de Lucas y sus compañeros,⁶⁴ que descubrieron que las quemaduras de retina por laser en un ojo evitaban la inducción de la ACAID en el ojo contrario y que el neuropéptido SP estaba implicado en la pérdida del privilegio inmune. En consecuencia, interrogamos los segmentos anteriores de ambos ojos siguiendo las incisiones corneales circulares y encontramos un abrupto aumento del SP en ambos ojos. Posteriores investigaciones mostraron que bloquear el receptor SP (NK1-R) a la hora de trepanar las corneas previene la SLIP. Así, los ratones sometidos al trepanamiento de un ojo y tratados simultáneamente con Spantide II, un antagonista del NK1-R, mostraron un 50% de rechazo que se sabe que suele ocurrir con aquellos ratones que reciben un primer trasplante corneal.⁵⁷ Interesantemente, el tratamiento con Spantide II no mejoró el privilegio inmune de los primeros destinatarios de aloinjertos sin trepanamiento en el ojo opuesto. Es decir, los trasplantes corneales de ratones tratados con Spantide II sufrieron un 50% de casos de rechazo. Así, la liberación de la sustancia P seguido del daño de los nervios afecta al privilegio inmune para próximos aloinjertos corneales, pero no pone en peligro el destino del primer trasplante corneal. Tal como un billete de tren permite un viaje en tren la primera vez, un billete marcado no permite más viajes en tren. Los linfocitos T reguladores son análogos al billete de tren y la emisión de la sustancia P es análogo al billete marcado que prohíbe la reutilización de los linfocitos T reguladores.

LAS CÉLULAS CONTRASUPRESORAS INTERCEDEN EN LA SLIP

La SLIP no se limita a los trasplantes corneales, se extiende a la cámara anterior y afecta específicamente a la inducción y

expresión de la ACAID. Una serie de investigaciones demostró que las maniobras que inducen SLIP, como la ablación del nervio corneal, la inyección de sustancia P o la queratoplastia, previnieron la inducción del ACAID.^{60,61} Notablemente, una sola inyección de un bolo intravenoso de 0,1 picogramo de sustancia P impidió la inducción de la ACAID.

La sustancia P es el eje de la abolición del privilegio inmune en al menos dos otros modelos de la tolerancia inmune. Como se ha mencionado previamente, las quemaduras de retina por láser en un ojo previenen la inducción de la ACAID en el ojo opuesto por un mecanismo dependiente a la sustancia P.⁶⁴ Asimismo, las incisiones circunferenciales de 180° en un ojo previenen la inducción de la tolerancia mucosa al antígeno OVA aplicado tópicamente en el ojo opuesto.⁶⁵ Esta derogación de la tolerancia mucosa es dependiente de la sustancia P y puede ser bloqueado por la aplicación tópica de un receptor antagonista de sustancia P.

El receptor de sustancia P NK1-R está expresado en una amplia variedad de células, incluyendo las células dentríticas presentadoras de antígenos.⁶⁶ En la búsqueda de las células del NK1-R β que puedan contribuir al SLIP, CD11c β de las células dentríticas nos llamó la atención basado en la ubicación estratégica en la región inmediatamente yuxtapuesta a dónde las incisiones trepanas se hicieron a priori de los trasplantes ortotópicos. Además, estudios anteriores demostraron que las células dentríticas simuladas por la NK1-R inhiben la producción de IL-10 y promueven la generación de respuestas de condiciones inmunes Th1 asociadas con la pérdida del privilegio inmune ocular.⁶⁶

Experimentos in vivo revelaron que las células CD11c β aisladas de los ratones sometidos a la ablación nerviosa (por ejemplo, "trepanamiento") y transferidos adoptivamente a receptores previnieron la inducción de la ACAID.⁶⁰ Además, las células CD11c β expresadas en la actividad de las "células contrasupresoras" que bloquean las propiedades supresoras de los linfocitos T reguladores de ACAID in vivo. Más análisis demostraron que dañar los nervios corneales suscitan a la emisión de la sustancia P en la ubicación inmediata dónde las células dentríticas CD11c β residen y dónde está el aloinjerto corneal. La exposición in vitro a sustancia P convierte las células CD11c β a células contrasupresoras no específicas de antígenos que bloquean la inducción de la ACAID y también inhabilitan los linfocitos T reguladores ACAID.⁶⁰ Más experimentos confirmaron que las células oculares CD11c β eran precursoras para las células de la sustancia P con SLIP. Ya hemos mostrado que la inyección subconjuntival de los liposomas con clodronato reduce las células dentríticas CD11b β y las células dentríticas CD11c β y macrófagos Iba β en la superficie ocular.⁶⁷ Utilizando este enfoque, las células CD11c β en la superficie ocular se redujeron antes de la ablación del nervio corneal. Aunque la ablación del nervio corneal normalmente previene la inducción de la ACAID, la reducción de las células dentríticas CD11c β previnieron el desarrollo de las SLIP y permitieron el desarrollo de la ACAID y la generación normal del linfocito T regulador.⁶¹ Estos resultados confirmaron colectivamente que las células contrasupresoras CD11c β son la población de células subyacente que media la SLIP (Fig. 2). Es decir, se ha demostrado que las células CD11c β aisladas de ratones sometidos al trepanamiento inhabilitan los linfocitos T reguladores in vivo. Además, el acondicionamiento in vitro de células CD11c β con la sustancia P las convierte en células contrasupresoras que bloquean los linfocitos T reguladores en anfitriones de terceros. La reducción de la superficie ocular de las células CD11c β previa a la ablación del nervio corneal previene la generación de células contrasupresoras y permite la expresión completa de la actividad de los linfocitos T reguladores y restaura el privilegio inmune.

LOS OJOS Y SU COMPAÑERO, EL SISTEMA INMUNOLÓGICO

Puede resultar contradictorio que el ojo pueda tener un sistema tan elaborado de controles y contrapesos para silenciar la inflamación

inmuno-mediada, pero la lesión de un ojo rescinde el privilegio inmune en ambos ojos. Si el privilegio inmune está destinado a proteger el ojo de la devastación de la inflamación, ¿Cuál es el beneficio de extirpar el privilegio inmune en un ojo libre de daño (el ojo opuesto)? Proponemos que la terminación del privilegio inmune ocular es una adaptación para proteger el ojo de infecciones peligrosas. El ojo y el sistema inmune establecen un compromiso en el que ninguno de los agentes no infecciosos y los antígenos nominales que hacen frente al ojo se ignoren por el sistema inmunológico, sino suscitan una supresión de la respuesta inmune que asegura que la inflamación no surgirá. Al hacer la decisión de si una entidad foránea es una amenaza, el sistema inmune percibe "señales de peligro" que llevan a la terminación del privilegio inmune. Las señales de peligro ocurren de distintas formas. El daño de los nervios corneales, las quemaduras alcalinas en la superficie ocular o los agentes infecciosos simulan la emisión de la sustancia P que lleva a la generación de las células CS y la interrupción del privilegio inmune. Las quemaduras alcalinas en la cornea de un ojo previenen la inducción de la tolerancia inmune en el ojo puesto por un proceso dependiente de la sustancia P.⁶⁵ Dos de las causas principales de la queratitis infecciosa y ceguera, HSV y la *Pseudomonas aeruginosa*, herpética y la queratitis *Pseudomonas* y permiten la expresión completa de la inmunidad antimicrobiana incluso si el coste es la ceguera. En la ausencia de una respuesta estas infecciones pueden producir un fin fatídico. Proponemos que el sistema inmune anticipa que la infección en un ojo ocurrirá eventualmente en el ojo opuesto y por tanto, el conjunto completo de respuestas inmunes es desatado para librar al ojo de los agentes infecciosos mortales. Es notable que al menos una forma del privilegio inmune (por ejemplo: ACAID) no se expresa en ratones criados sin luz, una condición en la que ninguna visión ni foto entrenamiento (por ejemplo: el ritmo circadiano) se encuentra. El privilegio inmune es innecesario en estas condiciones pero proteger la retina de una infección potencialmente letal asume una prioridad mayor. ¿Es posible que se rescinda del privilegio inmune en estas condiciones como una adaptación para reducir el riesgo de infecciones mortales?

Agradecimientos

Numerosos amigos y compañeros han impactado mi carrera y mi vida profundamente los últimos 40 años. Se lo agradezco a mis estudiantes de postgrado que me inspiraron, a mis compañeros postdoctorales que me retaron y mi equipo técnico que me apoyó. Aprecio profundamente el apoyo inquebrantable de la investigación para prevenir la ceguera durante toda mi carrera. Mi hija Jennifer y mi hijo Jason y sus familias han sido una fuente de amor y apoyo durante los años. Sobre todo, mi mujer Jean ha sido mi defensora más leal, mejor amiga y el amor de mi vida.

Apoyado por las subvenciones de los Institutos Nacionales de Salud EY007641, EY030413 y la ayuda libre de la investigación para prevenir la ceguera.

Divulgación: J.Y.Niederkorn, ImmuneYZ, LLC (S)

Referencias

1. Vaughan HG, Schlömmel H. Feasibility of electrocortical visual prostheses. In: RD, Sterling Bensig EA, Pollack SU, eds. *Visual Prostheses, The Interdisciplinary Dialogue*. New York: Academic Press; 1971:65–79.
2. van Dooremaal JC. Die Entwicklung der in fremden grund versetzten lebenden gewebe [in German]. *Albrecht von Graefes Arch Ophthalmol*. 1873;19:358–373.
3. Zirm E. Eine erfolgreiche totale keratoplastik [in German]. *Graefes Arch Ophthalmology*. 1906;64:580–593.
4. Medawar PB. Immunity to homologous grafted skin. III. The fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue, and to the anterior chamber of the eye. *Br J Exp Pathol*. 1948;29:58–69.
5. Egan RM, Yorkey C, Black R, Loh WK, Stevens JL, Woodward JG. Peptide-specific T cell clonal expansion in vivo following immunization in the eye, an immune-privileged site. *J Immunol*. 1996;157:2262–2271.
6. Reyes NJ, O'Koren EG, Saban DR. New insights into mononuclear phagocyte biology from the visual system. *Nat Rev Immunol*. 2017;17:322–332.
7. Niederkorn JY. See no evil, hear no evil, do no evil: the lessons of immune privilege. *Nat Immunol*. 2006;7:354–359.
8. Niederkorn JY. Anterior chamber-associated immune deviation and its impact on corneal allograft survival. *Curr Opin Organ Transplant*. 2006;11:360–365.
9. Bill A. Ocular circulation. In: Moses RA, ed. *Adler's Physiology of the Eye*. St. Louis: C.V. Mosby Co.; 1970:278–296.
10. Bill A. The blood-aqueous barrier. *Trans Ophthalmol Soc U K*. 1986;105:149–155.
11. Abi-Hanna D, Wakefield D, Watkins S. HLA antigens in ocular tissues. I. In vivo expression in human eyes. *Transplantation*. 1988;45:610–613.
12. Lampson LA, Fisher CA. Weak HLA and beta 2-microglobulin expression of neuronal cell lines can be modulated by interferon. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81:6476–6480.
13. Le Bouteiller P. HLA class I chromosomal region, genes, and products: facts and questions. *Crit Rev Immunol*. 1994;14:89–129.
14. Gregerson DS, Dou C. Spontaneous induction of immunoregulation by an endogenous retinal antigen. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:2984–2991.
15. Taylor AW. Ocular immunosuppressive microenvironment. *Chem Immunol*. 2007;92:71–85.
16. Yoshida M, Kezuka T, Streilein JW. Participation of pigment epithelium of iris and ciliary body in ocular immune privilege. 2. Generation of TGF-beta-producing regulatory T cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:3862–3870.

18. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, Green DR, Ferguson TA. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science*. 1995;270:1189–1192.
19. Hori J, Wang M, Miyashita M, et al. B7-H1-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege of corneal allografts. *J Immunol*. 2006;177:5928–5935.
20. Shen L, Jin Y, Freeman GJ, Sharpe AH, Dana MR. The function of donor versus recipient programmed death-ligand 1 in corneal allograft survival. *J Immunol*. 2007;179:3672–3679.
21. Wang S, Boonman ZF, Li HC, et al. Role of TRAIL and IFN-gamma in CD4 T cell-dependent tumor rejection in the anterior chamber of the eye. *J Immunol*. 2003;171:2789–2796.
22. Streilein JW, Niederkorn JY. Induction of anterior chamber-associated immune deviation requires an intact, functional spleen. *J Exp Med*. 1981;153:1058–1067.
23. Niederkorn JY, Mellon J. Anterior chamber-associated immune deviation promotes corneal allograft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996;37:2700–2707.
24. Pliskova J, Duncan L, Holan V, Filipec M, Kraal G, Forrester JV. The immune response to corneal allograft requires a site-specific draining lymph node. *Transplantation*. 2002;73:210–215.
25. Yamagami S, Dana MR. The critical role of lymph nodes in corneal alloimmunization and graft rejection. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:1293–1298.
26. Streilein JW, Niederkorn JY. Characterization of the suppressor cell(s) responsible for anterior chamber-associated immune deviation (ACAID) induced in BALB/c mice by P815 cells. *J Immunol*. 1985;134:1381–1387.
27. Knisely TL, Luckenbach MW, Fischer BJ, Niederkorn JY. Destructive and nondestructive patterns of immune rejection of syngeneic intraocular tumors. *J Immunol*. 1987;138:4515–4523.
28. Metcalf JF, Hamilton DS, Reichert RW. Herpetic keratitis in athymic (nude) mice. *Infect Immun*. 1979;26:1164–1171.
29. Foster RG. Keeping an eye on the time: the Cogan Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:1286–1298.
30. Foster RG. Seeing the light...in a new way. *J Neuroendocrinol*. 2004;16:179–180.
31. Voigt RM, Forsyth CB, Green SJ, Engen PA, Keshavarzian A. Circadian rhythm and the gut microbiome. *Int Rev Neurobiol*. 2016;131:193–205.
32. von Schantz M, Provencio I, Foster RG. Recent developments in circadian photoreception: more than meets the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:1605–1607.
33. Yamazaki S, Goto M, Menaker M. No evidence for extraocular photoreceptors in the circadian system of the Syrian hamster. *J Biol Rhythms*. 1999;14:197–201.
34. Foster RG, Provencio I, Hudson D, Fiske S, De Grip W, Menaker M. Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (rd/rd). *J Comp Physiol A*. 1991;169:39–50.
35. Hankins MW, Peirson SN, Foster RG. Melanopsin: an exciting photopigment. *Trends Neurosci*. 2008;31:27–36.
36. Hughes S, Rodgers J, Hickey D, Foster RG, Peirson SN, Hankins MW. Characterisation of light responses in the retina of mice lacking principle components of rod, cone and melanopsin phototransduction signalling pathways. *Sci Rep*. 2016;6:28086.
37. van Diepen HC, Foster RG, Meijer JH. A colourful clock. *PLoS Biol*. 2015;13:e1002160.
38. Mizuno K, Altman NF, Clark AF, Streilein JW. Histopathologic analysis of experimental autoimmune uveitis attenuated by intracameral injection of S-antigen. *Curr Eye Res*. 1989;8:113–121.
51. Dietrich T, Bock F, Yuen D, et al. Cutting edge: lymphatic vessels, not blood vessels, primarily mediate immune rejections after transplantation. *J Immunol*. 2010;184:535–539.
52. Beauregard C, Stevens C, Mayhew E, Niederkorn JY. Cutting edge: atopy promotes Th2 responses to alloantigens and increases the incidence and tempo of corneal allograft rejection. *J Immunol*. 2005;174:6577–6581.
53. Flynn TH, Ohbayashi M, Ikeda Y, Ono SJ, Larkin DF. Effect of allergic conjunctival inflammation on the allogeneic response to donor cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:4044–4049.
54. Niederkorn JY, Chen PW, Mellon J, Stevens C, Mayhew E. Allergic airway hyperreactivity increases the risk for corneal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2009;9:1017–1026.
55. Reyes NJ, Chen PW, Niederkorn JY. Allergic conjunctivitis renders CD4(+) T cells resistant to regulatory cells and exacerbates corneal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2013;13:1181–1192.
56. The collaborative corneal transplantation studies (CCTS). Effectiveness of histocompatibility matching in high-risk corneal transplantation. The Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Arch Ophthalmol*. 1992;110:1392–1403.

Corneal Nerve Ablation and Ocular Immune Privilege

57. Coster DJ, Williams KA. The impact of corneal allograft rejection on the long-term outcome of corneal transplantation. *Am J Ophthalmol.* 2005;140:1112–1122.
58. Paunicka KJ, Mellon J, Robertson D, Petroll M, Brown JR, Niederkorn JY. Severing corneal nerves in one eye induces sympathetic loss of immune privilege and promotes rejection of future corneal allografts placed in either eye. *Am J Transplant.* 2015;15:1490–1501.
59. Castiblanco CP, Adelman RA. Sympathetic ophthalmia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol.* 2009;247:289–302.
60. Albert DM, Diaz-Rohena R. A historical review of sympathetic ophthalmia and its epidemiology. *Surv Ophthalmol.* 1989;34: 1–14.
61. Mo J, Neelam S, Mellon J, Brown JR, Niederkorn JY. Effect of corneal nerve ablation on immune tolerance induced by corneal allografts, oral immunization, or anterior chamber injection of antigens. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2017;58: 137–148.
62. Neelam S, Mellon J, Wilkerson A, Niederkorn JY. Induction of contrasuppressor cells and loss of immune privilege produced by corneal nerve ablation. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2018;59:4738–4747.
63. Cursiefen C, Rummelt C, Junemann A, et al. Absence of blood and lymphatic vessels in the developing human cornea. *Cornea.* 2006;25:722–726.
64. Rozsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain.* 1982;14:105–120.
65. Lucas K, Karamichos D, Mathew R, Zieske JD, Stein-Streilein J. Retinal laser burn-induced neuropathy leads to substance P-dependent loss of ocular immune privilege. *J Immunol.* 2012; 189:1237–1242.
66. Guzman M, Miglio MS, Zgajnar NR, et al. The mucosal surfaces of both eyes are immunologically linked by a neurogenic inflammatory reflex involving TRPV1 and substance P. *Mucosal Immunol.* 2018;11:1441–1453.
67. Janelins BM, Sumpter TL, Tkacheva OA, et al. Neurokinin-1 receptor agonists bias therapeutic dendritic cells to induce type 1 immunity by licensing host dendritic cells to produce IL-12. *Blood.* 2013;121:2923–2933.
68. Schaumburg CS, Siemasko KF, De Paiva CS, et al. Ocular surface APCs are necessary for autoreactive T cell-mediated experimental autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol.* 2011;187:3653–3662.
69. Foldenauer ME, McClellan SA, Barrett RP, Zhang Y, Hazlett LD. Substance P affects growth factors in *Pseudomonas aeruginosa*-infected mouse cornea. *Cornea.* 2012;31:1176–1188.
70. Hazlett LD, McClellan SA, Barrett RP, Liu J, Zhang Y, Lighvani S. Spantide I decreases type I cytokines, enhances IL-10, and reduces corneal perforation in susceptible mice after *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2007;48:797–807.
71. McClellan SA, Zhang Y, Barrett RP, Hazlett LD. Substance P promotes susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in resistant mice: anti-inflammatory mediators downregulated. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:1502–1511.
72. Twardy BS, Channappanavar R, Suvas S. Substance P in the corneal stroma regulates the severity of herpetic stromal keratitis lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52:8604–

73. Vaughan HG, Schlimmel H. Feasibility of electrocortical visual prostheses. In: RD, Sterling Bensig EA, Pollack SU, eds. *Visual Prostheses, The Interdisciplinary Dialogue*. New York: Academic Press; 1971:65–79.
74. van Dooremaal JC. Die Entwicklung der in fremden grund versetzten lebenden gewebe [in German]. *Albrecht von Graefes Arch Ophthalmol*. 1873;19:358–373.
75. Zirm E. Eine erfolgreiche totale keratoplastik [in German]. *Graefes Arch Ophthalmology*. 1906;64:580–593.
76. Medawar PB. Immunity to homologous grafted skin. III. The fate of skin homografts transplanted to the brain, to subcutaneous tissue, and to the anterior chamber of the eye. *Br J Exp Pathol*. 1948;29:58–69.
77. Egan RM, Yorkey C, Black R, Loh WK, Stevens JL, Woodward JG. Peptide-specific T cell clonal expansion in vivo following immunization in the eye, an immune-privileged site. *J Immunol*. 1996;157:2262–2271.
78. Reyes NJ, O’Koren EG, Saban DR. New insights into mononuclear phagocyte biology from the visual system. *Nat Rev Immunol*. 2017;17:322–332.
79. Niederkorn JY. See no evil, hear no evil, do no evil: the lessons of immune privilege. *Nat Immunol*. 2006;7:354–359.
80. Niederkorn JY. Anterior chamber-associated immune deviation and its impact on corneal allograft survival. *Curr Opin Organ Transplant*. 2006;11:360–365.
81. Bill A. Ocular circulation. In: Moses RA, ed. *Adler’s Physiology of the Eye*. St. Louis: C.V. Mosby Co.; 1970:278–296.
82. Bill A. The blood-aqueous barrier. *Trans Ophthalmol Soc U K*. 1986;105:149–155.
83. Abi-Hanna D, Wakefield D, Watkins S. HLA antigens in ocular tissues. I. In vivo expression in human eyes. *Transplantation*. 1988;45:610–613.
84. Lampson LA, Fisher CA. Weak HLA and beta 2-microglobulin expression of neuronal cell lines can be modulated by interferon. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1984;81:6476–6480.
85. Le Bouteiller P. HLA class I chromosomal region, genes, and products: facts and questions. *Crit Rev Immunol*. 1994;14:89–129.
86. Gregerson DS, Dou C. Spontaneous induction of immunoregulation by an endogenous retinal antigen. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:2984–2991.
87. Taylor AW. Ocular immunosuppressive microenvironment. *Chem Immunol*. 2007;92:71–85.
88. Yoshida M, Kezuka T, Streilein JW. Participation of pigment epithelium of iris and ciliary body in ocular immune privilege. 2. Generation of TGF-beta-producing regulatory T cells. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:3862–3870.
89. Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, Green DR, Ferguson TA. Fas ligand-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege. *Science*. 1995;270:1189–1192.
90. Hori J, Wang M, Miyashita M, et al. B7-H1-induced apoptosis as a mechanism of immune privilege of corneal allografts. *J Immunol*. 2006;177:5928–5935.
91. Shen L, Jin Y, Freeman GJ, Sharpe AH, Dana MR. The function of donor versus recipient programmed death-ligand 1 in corneal allograft survival. *J Immunol*. 2007;179:3672–3679.
92. Wang S, Boonman ZF, Li HC, et al. Role of TRAIL and IFN-gamma in CD4⁺T cell-dependent tumor rejection in the anterior chamber of the eye. *J Immunol*. 2003;171:2789–2796.
93. Streilein JW, Niederkorn JY. Induction of anterior chamber-associated immune deviation requires an intact, functional spleen. *J Exp Med*. 1981;153:1058–1067.
94. Niederkorn JY, Mellon J. Anterior chamber-associated immune deviation promotes corneal allograft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1996;37:2700–2707.
95. Plskova J, Duncan L, Holan V, Filipec M, Kraal G, Forrester JV. The immune response to corneal allograft requires a site-specific draining lymph node. *Transplantation*. 2002;73:210–215.
96. Yamagami S, Dana MR. The critical role of lymph nodes in corneal alloimmunization and graft rejection. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2001;42:1293–1298.
97. Streilein JW, Niederkorn JY. Characterization of the suppressor cell(s) responsible for anterior chamber-associated immune deviation (ACAID) induced in BALB/c mice by P815 cells. *J Immunol*. 1985;134:1381–1387.
98. Knisely TL, Luckenbach MW, Fischer BJ, Niederkorn JY. Destructive and nondestructive patterns of immune rejection of syngeneic intraocular tumors. *J Immunol*. 1987;138:4515–4523.
99. Metcalf JF, Hamilton DS, Reichert RW. Herpetic keratitis in athymic (nude) mice. *Infect Immun*. 1979;26:1164–1171.
100. Foster RG. Keeping an eye on the time: the Cogan Lecture. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2002;43:1286–1298.
101. Foster RG. Seeing the light...in a new way. *J Neuroendocrinol*. 2004;16:179–180.
102. Voigt RM, Forsyth CB, Green SJ, Engen PA, Keshavarzian A. Circadian rhythm and the gut microbiome. *Int Rev Neurobiol*. 2016;131:193–205.
103. von Schantz M, Provencio I, Foster RG. Recent developments in circadian photoreception: more than meets the eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2000;41:1605–1607.
104. Yamazaki S, Goto M, Menaker M. No evidence for extraocular photoreceptors in the circadian system of the Syrian hamster. *J Biol Rhythms*. 1999;14:197–201.
105. Foster RG, Provencio I, Hudson D, Fiske S, De Grip W, Menaker M. Circadian photoreception in the retinally degenerate mouse (rd/rd). *J Comp Physiol A*. 1991;169:39–50.
106. Hankins MW, Peirson SN, Foster RG. Melanopsin: an exciting photopigment. *Trends Neurosci*. 2008;31:27–36.
107. Hughes S, Rodgers J, Hickey D, Foster RG, Peirson SN, Hankins MW. Characterisation of light responses in the retina of mice lacking principle components of rod, cone and melanopsin phototransduction signalling pathways. *Sci Rep*. 2016;6:28086.
108. van Diepen HC, Foster RG, Meijer JH. A colourful clock. *PLoS Biol*. 2015;13:e1002160.
109. Mizuno K, Altman NF, Clark AF, Streilein JW. Histopathologic analysis of experimental autoimmune uveitis attenuated by intracameral injection of S-antigen. *Curr Eye Res*. 1989;8:113–121.

110. Ferguson TA, Hayashi JD, Kaplan HJ. Regulation of the systemic immune response by visible light and the eye. *FASEB J*. 1988;2:3017–3021.
111. Ferguson TA, Mahendra SL, Hooper P, Kaplan HJ. The wavelength of light governing intraocular immune reactions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1992;33:1788–1795.
112. Di Zazzo A, Kheirkhah A, Abud TB, Goyal S, Dana R. Management of high-risk corneal transplantation. *Surv Ophthalmol*. 2017;62:816–827.
113. Niederkorn JY. High-risk corneal allografts and why they lose their immune privilege. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2010;10:493–497.
114. Niederkorn JY. Cornea: window to ocular immunology. *Curr Immunol Rev*. 2011;7:328–335.
115. Niederkorn JY, Larkin DF. Immune privilege of corneal allografts. *Ocul Immunol Inflamm*. 2010;18:162–171.
116. Chauhan SK, Saban DR, Lee HK, Dana R. Levels of Foxp3 in regulatory T cells reflect their functional status in transplantation. *J Immunol*. 2009;182:148–153.
117. Cunnusamy K, Chen PW, Niederkorn JY. IL-17A-dependent CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells promote immune privilege of corneal allografts. *J Immunol*. 2011;186:6737–6745.
118. Cunnusamy K, Paunicka K, Reyes N, Yang W, Chen PW, Niederkorn JY. Two different regulatory T cell populations that promote corneal allograft survival. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51:6566–6574.
119. Stuart PM, Griffith TS, Usui N, Pepose J, Yu X, Ferguson TA. CD95 ligand (FasL)-induced apoptosis is necessary for corneal allograft survival. *J Clin Invest*. 1997;99:396–402.
120. Chen L, Hamrah P, Cursiefen C, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-3 mediates induction of corneal alloimmunity. *Nat Med*. 2004;10:813–815.
121. Cursiefen C, Chen L, Borges LP, et al. VEGF-A stimulates lymphangiogenesis and hemangiogenesis in inflammatory neovascularization via macrophage recruitment. *J Clin Invest*. 2004;113:1040–1050.
122. Dietrich T, Bock F, Yuen D, et al. Cutting edge: lymphatic vessels, not blood vessels, primarily mediate immune rejections after transplantation. *J Immunol*. 2010;184:535–539.
123. Beauregard C, Stevens C, Mayhew E, Niederkorn JY. Cutting edge: atopy promotes Th2 responses to alloantigens and increases the incidence and tempo of corneal allograft rejection. *J Immunol*. 2005;174:6577–6581.
124. Flynn TH, Ohbayashi M, Ikeda Y, Ono SJ, Larkin DF. Effect of allergic conjunctival inflammation on the allogeneic response to donor cornea. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:4044–4049.
125. Niederkorn JY, Chen PW, Mellon J, Stevens C, Mayhew E. Allergic airway hyperreactivity increases the risk for corneal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2009;9:1017–1026.
126. Reyes NJ, Chen PW, Niederkorn JY. Allergic conjunctivitis renders CD4⁺ T cells resistant to regulatory cells and exacerbates corneal allograft rejection. *Am J Transplant*. 2013;13:1181–1192.
127. The collaborative corneal transplantation studies (CCTS). Effectiveness of histocompatibility matching in high-risk corneal transplantation. The Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Arch Ophthalmol*. 1992;110:1392–1403.
128. Coster DJ, Williams KA. The impact of corneal allograft rejection on the long-term outcome of corneal transplantation. *Am J Ophthalmol*. 2005;140:1112–1122.
129. Paunicka KJ, Mellon J, Robertson D, Petroll M, Brown JR, Niederkorn JY. Severing corneal nerves in one eye induces sympathetic loss of immune privilege and promotes rejection of future corneal allografts placed in either eye. *Am J Transplant*. 2015;15:1490–1501.
130. Castiblanco CP, Adelman RA. Sympathetic ophthalmia. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2009;247:289–302.
131. Albert DM, Diaz-Rohena R. A historical review of sympathetic ophthalmia and its epidemiology. *Surv Ophthalmol*. 1989;34:1–14.
132. Mo J, Neelam S, Mellon J, Brown JR, Niederkorn JY. Effect of corneal nerve ablation on immune tolerance induced by corneal allografts, oral immunization, or anterior chamber injection of antigens. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2017;58:137–148.
133. Neelam S, Mellon J, Wilkerson A, Niederkorn JY. Induction of contrasuppressor cells and loss of immune privilege produced by corneal nerve ablation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2018;59:4738–4747.
134. Cursiefen C, Rummelt C, Junemann A, et al. Absence of blood and lymphatic vessels in the developing human cornea. *Cornea*. 2006;25:722–726.
135. Rozsa AJ, Beuerman RW. Density and organization of free nerve endings in the corneal epithelium of the rabbit. *Pain*. 1982;14:105–120.
136. Lucas K, Karamichos D, Mathew R, Zieske JD, Stein-Streilein J. Retinal laser burn-induced neuropathy leads to substance P-dependent loss of ocular immune privilege. *J Immunol*. 2012;189:1237–1242.
137. Guzman M, Miglio MS, Zgajnar NR, et al. The mucosal surfaces of both eyes are immunologically linked by a neurogenic inflammatory reflex involving TRPV1 and substance P. *Mucosal Immunol*. 2018;11:1441–1453.
138. Janelsins BM, Sumpter TL, Tkacheva OA, et al. Neurokinin-1 receptor agonists bias therapeutic dendritic cells to induce type 1 immunity by licensing host dendritic cells to produce IL-12. *Blood*. 2013;121:2923–2933.
139. Schaumburg CS, Siemasko KF, De Paiva CS, et al. Ocular surface APCs are necessary for autoreactive T cell-mediated experimental autoimmune lacrimal keratoconjunctivitis. *J Immunol*. 2011;187:3653–3662.
140. Foldenauer ME, McClellan SA, Barrett RP, Zhang Y, Hazlett LD. Substance P affects growth factors in *Pseudomonas aeruginosa*-infected mouse cornea. *Cornea*. 2012;31:1176–1188.
141. Hazlett LD, McClellan SA, Barrett RP, Liu J, Zhang Y, Lighvani S. Spantide I decreases type I cytokines, enhances IL-10, and reduces corneal perforation in susceptible mice after *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:797–807.
142. McClellan SA, Zhang Y, Barrett RP, Hazlett LD. Substance P promotes susceptibility to *Pseudomonas aeruginosa* keratitis in resistant mice: anti-inflammatory mediators downregulated. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49:1502–1511.
143. Twardy BS, Channappanavar R, Suvas S. Substance P in the corneal stroma regulates the severity of herpetic stromal keratitis lesions. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52:8604–8613.