

同种心脏移植急性排斥反应机制研究进展

王昊飞 综述 王武军 审校

(广州南方医科大学第一附属医学院, 南方医院心胸外科, 广东 510515)

Evolverment of Study in Acute Rejection Mechanism of Allograft Heart Transplantation

WANG Hao-fei, WANG Wu-jun

(Department of Thoracic Surgery, Nanfang Hospital Affiliated to South Medical University, Guangzhou 510515, China)

文章编号: 1004-3934(2004)增刊-0010-03

中图分类号: R617

文献标识码: A

摘要: 同种原位心脏移植已成为临床治疗终末期心脏病的有效方法, 供心保存、外科手术技术、术后感染已不再是阻碍心脏移植成功的最主要因素。影响心脏移植成败, 术后病人的生存期以及生存质量的主要因素是术后免疫排斥反应。因此, 对心脏移植急性排斥反应的发生机制的研究便显得尤为重要。本文就其基本理论, 目前研究现状及进展进行探讨和综述。

关键词: 同种心脏移植; 急性排斥反应; 进展

Abstract The allograft heart transplantation has been developed to become an effective therapy for terminal heart disease. At present, donor heart preservation, surgical technique and the infection after transplantation have not been the major factors of the failure of transplantation. The acute rejection still has serious influence upon the success of surgery and the survival of acceptor. So, it is very important to study the mechanism of acute rejection. This article discussed the basic theory, the actuality and evolverment of the study of the mechanism of acute rejection.

Key words: allograft heart transplantation; acute rejection; evolverment

经过多年基础研究和临床实验, 同种原位心脏移植已成为一种应用于临床治疗终末期心脏病的有效方法。目前, 供心保存、外科手术技术、术后感染已不再是阻碍心脏移植成功的最主要因素。术后排斥反应, 尤其是急性排斥反应对心脏移植成败以及对心脏移植病人的生存期, 生存质量的影响显得越来越突出。因此, 对心脏移植急性排斥反应的发生机制的研究便显得尤为重要。本文就其基本理论, 目前研究现状及进展进行探讨和综述。

1 心脏移植急性排斥反应发生机理

在心脏移植急性排斥反应发生机理方面, 国内外学者已做了大量的研究。目前, 关于移植排斥反应的机制尚未完全弄清, 但总的来说, 不仅包括体液免疫和细胞免疫反应, 还与机械性、外科性创伤、缺血和再灌注损伤有密切关系。

1.1 免疫学机制

调控、细胞凋亡和缺血-再灌注等方面。现有研究成果证实, 同种移植排斥反应最主要的机制是由 T 淋巴细胞介导的细胞免疫反应, 即通过相应抗原激活的 T 细胞聚集于移植物并释放细胞活性因子或直接杀伤而造成免疫损害。其中主要有以下三种免疫损伤机制: (1) CD_4^+ 辅助性 T 淋巴细胞 (CD_4^+ helper T lymphocyte-1, CD_4^+ TH₁) 介导的迟发型超敏反应; (2) CD_8^+ 细胞毒性 T 淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocyte, CTL) 和 CD_4^+ CTL 直接杀伤表达异型抗原的移植细胞; (3) 激活的巨噬细胞和自然杀伤细胞 (NK)。

1.1.1 TH 细胞的活化

当外来移植物的血管与受者血管吻合开放后, 外来抗原就进入受者, 抗原递呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 或某些表达主要组织相容性复合体 II 类抗原 (major histocompatibility complex II, MHC-II) 的细胞, 如: 血管内皮细胞通过直接或间接递呈的方式将

受者 T 细胞通过 T 细胞受体(T cell receptor, TCR) — CD₃、CD₄/CD₈ 分子与 APC 上的 MHC 和抗原肽相互作用产生第一信号, 此外, 通过 CD₈₆ (B₇₂)/CD₈₀ (B₇₁) 与 CD₂₈/CTLA₄、细胞间黏附分子 (intercellular adhesion molecule, ICAM) ICAM1/2 与淋巴细胞功能相关抗原 (lymphocyte function associated antigen, LFA)、CD₄₈/LFA₃-CD₂, 以及一些糖基磷脂酰肌醇 (glucosyl phosphatidyl inositol, GPI)-锚蛋白 (CD₁₄、CD₂₄、CD₄₈、CD₅₅、CD₅₉) 与其配体等分子间的相互作用, 产生第二信使, 进一步活化蛋白酪氨酸激酶 (protein tyrosine kinase, PTK), 促使 ζ 链相关蛋白-70 (ζ associated protein-70, ZAP-70) 与 CD₃- ξ 结合及磷酸化, 促使磷脂酶 C (phospholipidase C, PLC) 活化, 然而再有磷酸肌酸-2 (phosphatidylinositol diphosphate-2, PIP₂) 分解产物 (diacylglycerol, DAG) 和磷酸肌醇 (phosphoinositide, PI₃), 进一步引发蛋白激酶 C (protein kinase C, PKC) 的活化, 导致钙离子内流升高, 促使 T 细胞核因子 (nuclear factor of activated T cell, NF-AT)、活化蛋白-1 (activator protein, AP-1)、OCT-1 和 NF- κ B 等 DNA 结合蛋白活化, 激活细胞癌基因 (cellular oncogene, c-onc) 和 IL-2、IL-2R 及其他基因, 最终导致 T 细胞活化分泌相关白细胞介素。近来 Korom^[1] 等证实 CD26 及其二肽酰基酶 IV (DPP IV) 参与 T 细胞的激活, 并可作为术后监测免疫排斥反应的指标之一。

抗原递呈、第一活化信号和第二活化信号对于 T 细胞的活化都是必须的。另外, APC 产生的 IL-1 也是 T 细胞活化的必要分子。

1.1.2 细胞毒性 T 细胞 (CTL)、单核细胞的活化和抗体的诱导

CTL 主要在活化的 CD₄⁺ 辅助性 T 淋巴细胞 (CD₄⁺ TH₁) 及其分泌的 IL-2 等作用下活化、除此之外, 目前还发现 CTL 可通过间接递呈机制直接识别靶器官的 MHC-I 抗原活化、在 CTL 被活化的同时, CD₄⁺ T 细胞产生的干扰素- γ (INF- γ) 又可活化单核细胞, 另外, 活化的 CD₄⁺ T (TH₂) 淋巴细胞, 若同时有 APC 分泌 IL-1 存在, 能通过分泌 IL-4、IL-5 诱导 B 细胞成熟, 成为浆细胞, 从而产生针对移植抗原的特异性抗体, 从而发生对靶细胞、组织和器官免疫攻击。

1.1.3 急性排斥反应的体液反应机制

关于 B 细胞活化的信号传递的研究远不如 T 细胞信号传递的研究深入, 其机制很不清楚, 但有报道其

IgM (surface membrane IgM, SmIgM)、Ig α /Ig β 或 Ig α /Ig γ 接受抗原刺激后活化其胞内片段相连的 Src 家族激酶 Ign 和 fyn 或 syk 家族激酶 ptk27。另外, 其他膜表面分子 CD₂₀、CD₁₄、CD₂₄、CD₄₈、CD₅₅、CD₅₉ 等与其相应配体相互作用产生第二信号, 活化 P 56lck 导致酪氨酸蛋白激酶 (protein tyrosine kinase, PTK)、PKC 活性增强, 通过某种机制促使核内基因转录。体液免疫的细胞毒机制主要是由特异性抗体和补体介导的补体依赖的细胞毒作用 (complement dependent cytotoxicity, CDC), 以及抗体和 NK、杀伤细胞 K、巨噬细胞 (M Φ) 等 IgG Fc 受者阳性细胞介导的抗体依赖性细胞介导的细胞毒作用 (antibody dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC), 从而使靶细胞、组织和靶器官受到损害。另外, 有研究亦认为体液免疫可介导 II 型变态反应的作用, 导致局部靶细胞的破坏, 但十分确切的机制目前还不很明确。

1.1.4 急性血管排斥反应 (acute vascular rejection, AVR)

在急性排斥反应中, 可出现特征性的 VAR, 其发生机制为: (1) 激活的 T 淋巴细胞直接杀伤血管内皮细胞, 或通过分泌淋巴因子激活炎性细胞, 引起内皮细胞坏死; (2) 受者体内产生针对血管内皮细胞同种抗原的 IgG 类抗体, 通过补体依赖的细胞毒作用, 导致移植血管管坏死。目前认为, 在三条补体活化途径的共同末端效应中, 若激活发生在细胞脂质双层上, 则形成攻膜复合体 (membrane antigen, MAC) C5b ~ 9, 并可造成移植心脏的损伤。近年来, 有学者证实, 在大鼠同种心脏移植急性排斥反应中, 巨噬细胞内 C6 mRNA 水平显著增高, 并与移植排斥反应程度有着明显相关性, 认为巨噬细胞分泌的补体 C6 在排斥反应中扮演着重要角色^[2]。Reinders^[3] 等发现血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 在急性排斥反应过程中显著增高, 并与 CD₃⁺ T 细胞、CD₆₈⁺ 单核细胞及巨噬细胞的渗透密切相关, 并认为 VEGF 表达的增高可预示病人 AVR 的发生。

1.1.5 细胞因子、表面受体及其基因表达调控

细胞因子主要是由 T 细胞产生的小分子多肽或糖蛋白, 作为细胞间传递分子, 主要介导和调节免疫应答和炎症反应。在 T 淋巴细胞介导的免疫排斥反应中, TH₁ 分泌的细胞因子主要有 IL-2、INF- γ 和 TNF- β 等, TH₂ 主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6 及 IL-10。目前认为, IL-2 的免疫抑制作用是急性排斥反应发生的

和淋巴细胞功能相关抗原(LFA)的作用非常显著,短期给予抗 ICAM-1 和抗 LFA 单抗,异位心脏(鼠)移植可以长期存活^[4]。而对 TH₂ 细胞因子在移植排斥反应中作用的研究,尚有不同看法,一种认为 TH₂ 细胞因子可下调 TH₁ 细胞驱动的排斥反应,延长移植物的存活期,促进机体对同种移植物的耐受^[5]。另一种看法则认为 TH₂ 细胞因子可促进 B 淋巴细胞转化为浆细胞,产生针对移植抗原的特异性抗体,引发对靶细胞、组织和器官的体液免疫反应,认为其对移植没有保护作用,反而促进了排斥反应的发生与发展^[6]。近来,有学者实验证实,穿孔素和颗粒酶基因 mRNA 的表达^[7]、细胞黏附素 VNR(CD₅₁/CD₆₁)^[8]、趋化因子受体 CXCR₃ 相关因子(γ-干扰素诱导蛋白 10、干扰素诱导的 T 细胞 α-趋化因子、γ-干扰素诱导的单核因子)^[9]、心肌内皮缩血管肽-1(ET-1)^[10] 在心脏移植急性排斥反应过程中均明显增加,认为它们在移植免疫反应中均扮演着重要角色。

1.2 缺血-再灌注损伤

心脏移植的过程为一典型的缺血-再灌注过程。许多研究证明,缺血和再灌注激活心肌内皮细胞,使之产生许多趋炎性因子,从而引起白细胞介导的心肌损伤^[11]。同时,缺血-再灌注期间包括心肌细胞、血管内皮细胞及白细胞产生和释放大自由基,随着自由基产生和向血液中释放的增加,将通过引起细胞膜脂质过氧化而损伤血细胞^[12],并可以损伤正常内皮细胞的生理功能,促进血栓形成,导致微循环障碍^[13]。近来,有学者^[14-16]认为,在缺血-再灌注过程中,心肌 Fas/FasL 系统在应激状态下被激活,并参与了排斥反应心肌损伤过程,FasL 蛋白阳性心肌浸润细胞诱导 Fas 阳性心肌细胞凋亡,介导了移植排斥。

经过多年的努力,同种心脏移植急性排斥反应发生机制的研究已进入分子基因水平,并取得了很大进展,对临床工作的指导有着重大意义。但在很多研究领域仍存在分歧和未知,如 TH₂ 细胞因子在免疫排斥反应中的作用、自身免疫耐受的诱导、早期诊断急性排斥反应的指标,以及红细胞及淋巴细胞本身生物特性的改变在急性排斥反应过程中的作用等方面,均需进一步的研究和探索。

[参考文献]

- [1] Korom S, de Meester I, Belyaev A, et al. CD26/DPP IV in experimental and clinical organ transplantation[J]. *Adv Exp Med Biol*. 2003; 524: 133-143.
- [2] Qian Z, Wasowska BA, Behrens E, et al. C6 produced by macrophages contributes to cardiac allograft rejection[J]. *Am J Pathol*. 1999; 155(4): 1293-1302.
- [3] Reinders ME, Fang JC, Wong W, et al. Expression patterns of vascular endothelial growth factor in human cardiac allografts: association with rejection[J]. *Transplantation*. 2003; 76(1): 224-230.
- [4] Isobe M, Yagita H, Okumura K, et al. Specific acceptance of cardiac allograft after treatment with antibodies to ICAM-1 and LFA-1[J]. *Science*. 1992; 255(5048): 1125-1127.
- [5] Ishido N, Matsuoka J, Matsuno T, et al. Induction of donor specific hyporesponsiveness and prolongation of cardiac allograft survival by jejunal administration of donor splenocytes[J]. *Transplantation*. 1999; 68: 1377-1382.
- [6] Dékel B, Boober WO, Moros H, et al. Acute cellular rejection of human renal tissue by adoptive transfer of allogeneic human peripheral blood mononuclear cells into chimeric rats: sequential gene expression of cytokines, chemokines and cytolytic effector molecules, and their regulation CTLA-4-Ig[J]. *Int Immunol*. 1999; 11: 1673.
- [7] 于波,李天发,侯静波,等.心肌中穿孔素和颗粒酶 B 基因表达水平与心脏移植急性排斥反应的关系[J]. *中华心血管病杂志*. 2002; 30(5): 305-307.
- [8] Yamani MH, Yang JC, Masri CS, et al. Acute cellular rejection following human heart transplantation is associated with increased expression of vitronectin receptor (Integrin alpha beta3)[J]. *Am J Transplant*. 2002; 2(2): 129-133.
- [9] Zhao XM, Hu YY, Geraldine GM, et al. Differential expression of the IFN-γ-induced CXCR3-binding chemokines, IFN-γ-inducible protein 10, monokine induced by IFN, and IFN-γ-inducible T cell alpha chemoattractant in human cardiac allografts: association with cardiac allograft vasculopathy and acute rejection[J]. *J Immunol*. 2002; 169(3): 1556-1560.
- [10] Ferri C, Properzi G, Tomassoni G, et al. Patterns of myocardial endothelin-1 expression and outcome after cardiac transplantation[J]. *Circulation*. 2002; 105(15): 1768-1771.
- [11] Boyle EM, Pohlman TH, Johnson MC, et al. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the systemic inflammatory response[J]. *Ann Thorac Surg*. 1997; 63: 277-284.
- [12] Pietri S, Sequin JR, Darbigny P, et al. Ascorbyl free radical: a noninvasive marker of oxidative stress in human open-heart surgery[J]. *Free Rad Bio Med*. 1994; 16: 523.
- [13] Magee JC, Platt JL, Oldham KT, et al. Oxidant stress increases susceptibility of porcine endothelial cells to injury by xenoreactive antibody and complement[J]. *Transp Proc*. 1994; 26: 1170.
- [14] Woller KC, Heinke J, Waternann J, et al. The cardiac fas (APO-1/CD95) receptor/fas ligand system: Relation to diastolic wall stress in volume-overload hypertrophy in vivo and activation of the transcription factor AP-1 in cardiac myocytes[J]. *Circulation*. 2000; 101: 1172-1178.
- [15] 李天发,于波,张瑶,等.心肌细胞的凋亡与急性心脏移植排斥的关系[J]. *哈尔滨医科大学学报*. 2001; 35(4): 263-265.
- [16] 孙宗全,张顺业,梁剑芳,等.低温体外循环术后犬心肌细胞凋亡及 Fas/FasL 系统的调节作用[J]. *中华实验外科杂志*. 2002; 19(6): 587-588.

收稿日期: 2004-02-06

修回日期: 2004-09-14

(本文编辑: 益西巴珍)