

• 综述 •

心脏移植的免疫学问题

北京心肺血管医疗研究中心(100029) 王来仪综述 李平审核

经多年实验研究, Lower 和 Shumway 在 1960 年首次成功地进行了狗原位移植。1967 年 12 月 Bannard 在临床上报了第一例人心脏原位移植。此后各国亦逐渐开展了临床心脏移植, 但因排斥及感染, 长期存活者甚少, 使此项工作落入低潮。1973 年 Caves 等创立了心脏移植后经静脉心内膜心肌活检技术, 大大提高了急性排斥反应的早期诊断率。Stanford 大学在临床上应用免疫抗胸腺细胞球蛋白(RATG), 减少了急性排斥反应的发生, 降低了死亡率, 促使各心脏移植中心开始新的移植计划⁽¹⁾。1983 年美国 FDA 批准环孢霉素在临床应用, 随后多克隆及单克隆抗体(RATG 及 OKT₃)的应用均使排斥反应, 感染及肾功能衰竭等并发症减少, 大大地提高了生存率。由于免疫学的发展, 大大推动了心脏移植的工作, 1991 年心脏移植病例数达 16,687⁽²⁾。心脏移植已成为终末期心脏病的确认治疗。

一、心脏移植的免疫配型

1. 组织相容性抗原(His tocompatibility antigen HLA)

Van Rood 发现多次接受输血者的血清中含有白细胞凝集抗体, 这种凝集反应与 1958 年 Dausset 在多次输血的病人和经产妇血清中发现的抗体的补体结合反应一致。他还发现白细胞抗原是受一个极为复杂的遗传系统控制的存在于有核细胞膜上的同族抗原。对组织移植的成功起决定作用。HLA 位点基因在人的第六对染色体短臂上, A、B 位点为主要组织相容性抗原系统(MHC), C 位点为次要的组织相容性抗原系统。统称为第一类抗原系统, 可由血清学反应, 即淋巴细胞微量细胞毒试验定型。混合淋巴细胞培养可反映 HLA-D 位点抗原的配合程度。DR 和 DQ 抗原系统也可由血清反应定型, 但要用纯化的 B 细胞。I 类抗原的 Dw 特异性是通过用 HLA-D 纯合子定型细胞(Hemozygous Typing Cells HTC)作为刺激细胞, 混合淋巴细胞反应的方法定

型。Dp 抗原是用致敏淋巴细胞定型法(Primed Lymphocyte Typing PLT)定型。

2. 心脏移植前的组织配型

MHC 遗传学特征表明, 由于单倍型遗传方式(haplotype), 器官移植应首先从兄弟、姐妹中找相同的配型。由于 MHC 的多态性(polymorphism), 找到合适的配型是很困难的。由于供体的来源不易, 心脏移植前不可能进行系统的 HLA 配型。目前文献报告的心脏移植术前的组织配型要求: 1. ABO 血型配合; 2. 受者随机的平板抗原交叉反应, 如果证明有高度阳性的抗体(PRA)存在, 应与数个供者的淋巴细胞交叉反应, 阴性反应者首选^(1,3)。

匹兹堡移植中心回顾性研究证明, 移植后三个月内, 急性排斥反应持续时间与 PRA 正相关, 5 年内的超急, 急性反慢性排斥反应的总死亡率随 PRA 强度而增强, PRA>10% 是排斥反应的危险因素⁽³⁾。

如果受者血清中存在与供者 T 淋巴细胞交叉配型阳性的抗体, 则导致超急排斥反应, 目前的免疫抑制药物无特效。因此应于术前定期进行血液透析。

二、心脏移植排斥的免疫监测

免疫排斥的诊断主要依据临床上排斥反应表现及心内膜心肌活检。本液及细胞免疫学实验可以比临床表现更早提示免疫调节过程, 但对排斥反应的诊断特异性不强, 尚不能代替有创性的心内膜心肌活检。

May. RM 等的报告表明, 在 17 例心脏移植及 9 例心肺移植术后用环孢霉素 A 治疗的病人中, 急性排斥反应时伴有“激活的”淋巴细胞数目增加, 这种细胞免疫监测的敏感性在心肺移植患者为 100%, 心脏移植患者为 94%, 但有 25% 为假阳性, 可能与病毒感染, 特别是巨细胞病毒感染有关⁽⁴⁾。

Hoshinagak 报告 51 例心脏移植住院期间的患者, 在排斥反应前的早期, 载铁蛋白受体阳性的淋巴细胞百分数显著上升, Th/Ts 的比例显著增加, 并

于排斥反应前的晚期上升到高峰,于排斥后期下降。在排斥反应治疗开始后,以上两项指标降到正常。相比之下,有感染合并症的病人,载铁蛋白受体阳性的淋巴细胞百分比亦显著上升,而 Th/Ts 细胞比例相对较低,因此这两项细胞免疫监测指标可以预测和诊断排斥,并有助于鉴别排斥和感染⁽⁵⁾。

Mooney M. L. 等对 32 个心脏移植患者前瞻性的研究表明,淋巴细胞活性,CD4/CD8 淋巴细胞比例与病人临床状态有关,例如,感染(早或晚期),排斥(轻,中,重),或静止。载铁蛋白受体阳性的淋巴细胞百分率(%TR⁺)的增加预示感染的存在,特别是急性感染。它可作为感染存在时的筛选试验,特别是对移植后的早期感染的鉴别⁽⁶⁾。

血液中白细胞介素 2 受体(SIL-2R)的测定可预测急性排斥反应。有报告认为当严重排斥时,SIL-2R 明显升高。当达到 1000 μ /ml 时,预测严重排斥的敏感性和特异性为 52% 和 63%。从基线上的一系列测定或定量的 SIL-2R 水平的变化对严重排斥反应可能更有预见性⁽⁷⁾。另外有报告认为血浆 SLIL-2R 的升高可以预报晚期的死亡率和动脉硬化发生率⁽⁸⁾。

此外,注意排斥在心功能及超声心动图,心电图等方面的改变,以及近两年来应用回声——多普勒检查等舒张期时间和压力半衰期对发现早期排斥也有一定价值。

Utah 大学将第一个月的每周免疫荧光心内膜心肌活检表现分为有 IgG, IgM, C3, C19 和纤维素的血管排斥反应组及头 4 周没有这种血管反应的为细胞反应组。研究结果表明血管反应组的 2 年存活率明显低于细胞反应组。血管反应组似乎更容易发生在高度阳性的 PRA 或阳性淋巴细胞交叉反应及 HLA-B 和 DR 位点误配的病人中。由于血管的排斥反应发生比细胞排斥反应早,且对常规治疗反应差,因此免疫荧光染色检测血管排斥应做为分析心内膜活检标本的标准程序。有证据表明活检时 T8⁺ 及 T4⁺ 的细胞数目随排斥反应的强度而增加,特别是 T8⁺ 的数目增加,可做为严重排斥反应的可靠指标⁽⁹⁾。此外,体液免疫在心脏移植时的反应也需进一步研究。

三、心脏移植的免疫抑制药物

常用的免疫抑制药物主要是硫唑嘌呤(Azathioprine),肾上腺皮质激素(methylprednisolone, Prednisone),环孢霉素 A (Cyclosporine A, CsA) 及抗胸

腺球蛋白(ATG)和抗 T 细胞单克隆抗体(OKT₃)。

环孢霉素 A 是一种真菌中肽类的代谢产物(11 个氨基酸组成的多肽),它的主要作用是通过抑制 T 细胞,使其失去产生 T 细胞生长因子而抑制 T 细胞,包括杀伤 T 细胞的增殖和功能。对一般的细胞,特别是骨髓细胞无毒性,因此常与硫唑嘌呤和肾上腺皮质激素联合应用于器官移植,效果强大。1980 年开始应用于心脏移植收到良好的效果⁽¹⁾。它最大的副作用是肾毒性和高血压,使用低剂量的 CsA 可使副作用减到最小。已有肾损害的病人需测定 BUN 和肌酐。各移植中心的用药剂量不一,大约在 3—8mg/kg/day,可用放免的方法测定血浆中的药物浓度(全血谷值:300—500 μ g/ml)⁽¹⁾。同时应用高剂量的甲基泼尼松,红霉素,酮康唑,两性霉素 B 时 CsA 的血浆浓度上升,合并应用利福平,双苯内酯胺,苯巴比妥以及 Sulfa trimethopoinl 可使血浆浓度下降。此外,注意不应与留钾利尿药合用⁽¹⁾。

抗胸腺球蛋白(ATG)是用外周血,尸体脾来源的或胸导管收获的淋巴细胞免疫马、兔或羊以产生抗淋巴细胞血清,然后分离出球蛋白。ATG 在高浓度时主要作用是与 T 淋巴细胞结合,在补体的共同作用下使其溶解,低浓度时召引吞噬细胞发生免疫粘连,吞噬消灭淋巴细胞。更低浓度时可封闭淋巴细胞识别移植靶细胞抗原受体,因而抑制细胞免疫。它对急性排斥反应最有效,对慢性排斥的效果尚待肯定,对由抗体引起的超急排斥反应则无效。

OKT₃ 是美国 Ortho 公司 Kung 于 1979 年生产出的人类 T 细胞表面抗原的单克隆抗体系列,由杂交瘤技术产生,与人类 T 细胞抗原 CD₃ 特异结合。由于 CD₃ 抗原是与组织相容性复合物限制性抗原识别点相连锁,因此高浓度 OKT₃ 通过阻断抗原识别位点的作用抑制了对异体细胞的溶解过程。此外,抗原调变作用是 OKT₃ 单抗的独特作用,当单抗结合到 T_H 细胞表面的抗原后,可使 T 细胞失去表面的抗原识别装置使 T 细胞失去与“外来”抗原相互作用的功能,产生迅速的 T 细胞功能的抑制(包括杀伤 T 细胞)。此外,它还有许多作用与 ATG 的重叠。1986 年,OKT₃ 是第一个被美国 FDA 证明可应用于人类的单克隆抗体。在心脏移植中,OKT₃ 可高度有效地逆转排斥反应。特别是在中、重度的以及对常规免疫抑制药物无反应的排斥反应及有严重的移植器官功能衰竭的病例中有效^(10,11)。

OKT₃ 及 ATG 常用于移植后 24—48 小时短期使

用,预防排斥反应。如 Pittsburg 大学以 Aza+Meth+CsA 为基本的协同药,加用 OKT₃ 或 ATG 预防,一年存活率为 95%,88 例中接受 ATG 治疗的病人 25% 发生排斥,35% 发生再排斥,而 OKT₃ 组 43% 发生排斥,50% 发生再排斥。尽管两组感染率无统计学差异,但他们认为 ATG 的效果优于 OKT₃,且 OKT₃ 组中大多数病人对首次剂量 OKT₃ 常发生动脉血压下降等合并症。⁽¹²⁾ Arizona 在心脏移植 10 年的经验总结中也表明用 CsA+Aza+Steroids 的基础上于术后第二天开始,ATG 200mg im, Q12h × 3d,一年存活率 94%,3 年 88%,且系统性毒副作用几乎可忽视⁽¹³⁾。

Utah 心脏移植中心联合用药的方案基本与上述相同,他们对预防给 ATG (n=25),反 OKT₃ (n=26) 的两组患者作了随机研究的比较,结果证明术后第二天给 OKT₃ 5mg 连续 14 天的预防方案优于 ATG 10mg/kg/day × 3⁽¹⁴⁾。

总之,成功的免疫监测和预防性联合用药方案使排斥的死亡率已不成为心脏移植后早期死亡的第一位原因,但如何解决心脏移植后晚期排斥和感染的死亡仍是面向我们的挑战。

参考文献

1. Pifarre R, Sullivan HJ, Montaya A, et al. Cardiac Transplantation. *Cardiology Clinics* 1989;7:183-194.
2. Kriett JM & Kaye MP. The registry of the international society for heart and lung transplantation; Eighth official report-1991. *J Heart Transplant*. 1991;10:491-498.
3. Javee J, Kormos RL, Duquesnoy RJ, et al. Influence of panel-reactive antibody and lymphocytotoxic cross-match on survival after heart transplantation. *J Heart Transplant*. 1991;10:921-930.
4. May RM, Cooper DKC, Toit EDD, et al. Cytoimmunologic monitoring after heart and heart-lung transplantation. *J Heart Transplant*. 1990;9:133-135.
5. Hoshinaga K, Mohanakumar T, Pascoe EA, et al. Expression of transferrin receptors on lymphocytes; Its correlation with T helper/T suppressor cytotoxic ratio and rejection in heart transplantation recipients. *J Heart Transplant*. 1988;7:198.
6. Mooney ML, Carlson P, Szentpetery S. A prospective study of the clinical utility of lymphocyte monitoring in the cardiac transplant recipient. *Transplantation*. 1990;50:951-954.
7. Young JB, Windsor NT, Smart FW, et al. Inability of isolated soluble interleukin-2 receptor levels to predict biopsy rejection scores after heart transplantation. *Transplantation*. 1991;51:636-641.
8. Young JB, Lloyd Ks, Windsor NT, et al. Elevated soluble interleukin-2 receptor levels early after heart transplantation and long-term survival and development of coronary arteriopathy. *J Heart Transplant*. 1991;10:243-250.
9. Higuchi ML, Assis RVC, Sambiase NV, et al. Usefulness of T-cell phenotype characterization in endomyocardial biopsy fragments from human cardiac allografts. *J Heart Transplant*. 1991;10:235-242.
10. Bristow MR, Gilbert EM, Renlund DG, et al. Use of OKT₃ monoclonal antibody in heart transplantation; Review of the initial experience. *J Heart Transplant*. 1988;7:1-11.
11. Sweeney MS, Sinnott JT, Cullison JP, et al. The use of OKT₃ for stubborn heart allograft rejection; An advance in clinical immunotherapy? *J Heart Transplant* 1987;6:324-328.
12. Kormos RL, Herlan DR, Armitage JM, et al. Monoclonal versus polyclonal antibody therapy for prophylaxis against rejection after heart transplantation. *J Heart Transplant*. 1990;9:10.
13. Copeland JG, Icenogle TB, Williams RJ, et al. Rabbit antithymocyte globulin; A 10-year experience in cardiac transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1990;99:852-860.
14. Renlund DG, O'Connell JB, Gilbert EM, et al. A prospective comparison of murine monoclonal CD3 (OKT₃) antibody-based and equine antithymocyte globulin-based rejection in prophylaxis in cardiac transplantation. [Decreased rejection and less corticosteroid use with OKT₃]. *Transplantation*. 1989;47:599-605.

(1992 年 7 月 29 日收稿)