

dialysis and renal transplantation in Anderson - Fabry disease [J] . Semin Nephrol, 2004, 24(5): 532-536.

[17] Mignani R, Cagnoli L. Enzyme replacement therapy in Fabry's disease: recent advances and clinical applications [J] . J Nephrol, 2004, 17(3): 354-363.

[18] Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N, et al. Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease [J] . Am J Hum Genet, 2004, 75(1): 65-74.

[19] Clarke JT, Iwanochko RM. Enzyme replacement therapy of Fabry disease[J] . Mol Neurobiol, 2005, 32(1): 43-50.

[20] Wilcox WR, Banikazemi M, Guffon N, et al. Long-term safety and efficacy of enzyme replacement therapy for Fabry disease [J] . Am J Hum Genet, 2004, 75(1): 65-74.

[21] Feriozzi S, Germain DP, Di Vito R, et al. Cystatin C as a marker of early changes of renal function in Fabry nephropathy[J] . J Nephrol, 2007, 20(4): 437-443.

[22] MacDermot KD, Holmes A, Miners AH. Anderson-Fabry disease: clinical manifestations and impact of disease in a cohort of 60 obligate carrier females[J] . J Med Genet, 2001, 38(11): 769-75.

收稿日期: 2008-01-22 修回日期: 2008-03-15 编辑: 姜恒丽

支气管肺泡灌洗对肺移植后闭塞性细支气管炎的诊断价值

齐 战^a, 杨大运^b, 姚继方^a

(河北医科大学第四医院 a. 胸一科; b. 呼吸内科 河北 石家庄 050011)

关键词: 肺移植; 闭塞性细支气管炎; 支气管肺泡灌洗; 细胞因子类

中图分类号: R562. 21; R392. 4

文献标识码: A

文章编号: 1004-583X(2008)09-0676-03

随着手术技术进步、器官保存质量提高和免疫抑制方法改进, 国外一些医院肺移植手术病死率已经下降到 10% 以下, 1 年生存率接近 70%, 然而 5 年生存率仅为 43.3%, 中位生存时间 3.7 年^[1]。研究表明, 主要是闭塞性细支气管炎 (obstructive bronchiolitis, OB) 限制了肺移植患者长期生存, 移植后 1 年发生率为 28%, 5 ~ 10 年达到 60% ~ 80%, OB 已经成为肺移植死亡的主要原因^[2]。支气管肺泡灌洗 (液) [BAL(F)] 是研究深部肺间隙细胞成分的重要方法, 可以分析肺移植后同种异体应答反应, 在肺移植患者术后监测中经常应用^[3]。BALF 中一些细胞成分和化学介质的变化可能与 OB 发生发展存在着一定的内在联系, 对于 OB 早期诊断和治疗效果的评价具有一定价值^[4]。国内肺移植刚刚起步, 有关 BAL 与 OB 关系的研究鲜有报道。现对国外肺移植后 OB 与 BALF 的研究现状进行综述, 也许对我国肺移植的发展有借鉴作用。

1 肺移植后 OB 的概念和发病机制

OB, 又称细支气管炎性闭塞 (BO), 是肺移植或心肺移植后一种进行性并通常致命的小气道功能紊乱。临床上称为细支气管炎性闭塞综合征 (BOS), 表现为渐进性呼吸困难和干咳。肺功能检查 1 秒末用力呼气容积 (FEV_{1.0}) 和呼气中段流量逐渐减少, 免疫抑制只能减缓它的发展速度^[5]。OB 的发病机制一直没有完全认识, 很可能是同种异基因免疫性或非免疫性损伤导致趋化性细胞因子释放和 T 淋巴细胞激活, 最终招募成纤维细胞在管腔内增生所致。具体为异种抗原依赖 (急性排斥) 和异种抗原非依赖因素 (缺血再灌注损伤、感染)

引起气道局部损伤, 触发炎症细胞浸润和炎症介质产生, 引起修复过程失控, 增生纤维组织充满管腔, 最终完全阻塞^[6]。

2 BALF 中细胞数量及分类的变化

2.1 中性粒细胞 在 OB 研究中比较一致的发现是 BALF 中性粒细胞数目增加。Hirsch 等^[7]发现 BOS 患者 BALF 中性粒细胞弹性蛋白酶 (NE)- α -蛋白酶抑制剂 (API) 复合物和氧化型蛋氨酸 [Met(O)] 浓度明显升高, 分泌型白细胞蛋白酶抑制剂 (SLPI) 浓度明显降低, 呈现 NE 活性和 MPO 浓度增加趋势, 认为中性粒细胞介入 BOS 的发生机制。Elssner 等^[8]观察到 BOS 患者 BALF 中性粒细胞数目增加与肺组织内中性粒细胞趋化因子水平升高相关, 分析中性粒细胞在 BOS 发病中的作用: ①引起气道内氧化压力升高; ②释放的 NE 负荷增加, 导致 NE 和抑制 NE 的分子失衡; ③SLPI 丧失导致抗蛋白酶屏障受损。Frost^[9]认为气管内中性粒细胞增多及被激活后向气管释放颗粒 (化学介质) 是 OB 发展的前奏, 正常保护性机制 (包括抗白细胞蛋白酶和抗氧化性损伤) 的丧失可能是这个疾病进展的组成部分。这些机制的发现为发展新的治疗策略提供了方向, 防止中性粒细胞黏附和激活或抑制中性粒细胞产物可以阻止或削弱气道损伤。Reynaud-Gaubert 等^[10]研究发现在 BOS 临床前期 BALF 中性粒细胞百分比水平明显升高, 平均在诊断前 (151 ± 164) 天。Slebos 等^[11]最近采用 BALF 中性粒细胞 > 3% 作为分界点, 对 OB 的敏感度 87.0%, 特异度 77.6%。Mamessier 等^[4]对肺移植受体并发 BOS 患者 BALF 和诱导痰液中细胞数量的研究中发现, BALF 所含中性粒细胞数量明显增加, 并且和 IL-8 水平呈正相关, 二者都与呼吸功能呈负相关。

2.2 酸性粒细胞 Scholma 等^[12]在一项前瞻性队列研究中, 对 60 例肺移植受体随访 2 ~ 8 年, 发现细胞总数、嗜酸性粒细胞等明显增加与 OB 发生危险相关。但 Riise 等^[13]认为不能确定 BALF 中嗜酸性粒细胞阳离子蛋白 (ECP), 来自激活的嗜酸性粒细胞能够被用作肺移植受体术后随访急性排斥的诊

表达和分泌因子(RANTES)明显增加,对于肺移植受体 BOS 的监测是有益的。

2.3 淋巴细胞 一些学者很早就发现 OB 患者 BALF 中 CD4⁺/CD8⁺ 比值增加。Scholma 等^[12] 观察到 BALF 中较多的细胞总数、淋巴细胞计数等明显与 OB 发生危险增加相关。Reynaud-Gaubert 等^[14] 发现肺泡中性粒细胞增多和 CD4⁺/CD8⁺ 比值增加与 OB 发生相关。Slebos 等^[11] 最近发现 OB 组 BALF 中 CD4⁺CD25⁺ 和 CD8⁺CD45⁺ 明显升高,在急性排斥中 BALF 的特点是淋巴细胞增多显著,但与稳定的对照组比较在一些淋巴细胞亚型方面没有区别;当采用 BALF 中淋巴细胞 ≤ 1% 为分界点,对急性排斥的敏感度 40.4%,特异度 95.6%;在 OB 中中性粒细胞显著增多、白细胞介素(IL-8)细胞因子水平升高、淋巴细胞数量激活较多可能表明持续进行的同种异体移植植物排斥反应。

2.4 纤维母细胞 临床研究证实 OB 患者 BALF 中纤维母细胞增殖反应明显加强,这可能由于一系列激活剂所致,如血小板衍生生长因子(PDGF)、转化生长因子β(TGFβ)、胰岛素样生长因子 1(IGF-1)、内皮素 1(ET-1)^[15]。

3 BALF 中白细胞介素的变化

3.1 IL-6 Scholma 等^[12] 证实支气管和肺泡部位 BALF 中 IL-6 浓度均升高,且与 OB 发生危险增加相关,认为监测肺移植后 2 个月内 BALF 中 IL-6 和 TBB 病理学变化将有助于 1 年内具有发生 OB 危险群体的更好辨别和处理。

3.2 IL-8 一些学者研究发现肺移植术后 OB 组患者 BALF 中性粒细胞增加,同时 IL-8 水平明显升高,趋化实验证实 IL-8 对中性粒细胞具有相当大的趋化活性,其免疫学定位与 OB 患者支气管周围区域 α-平滑肌肌动蛋白(+)细胞有关,OB 组在诊断前中性粒细胞和 IL-8 水平具有升高趋势。Scholma 等^[12] 证实 IL-8 浓度升高与 OB 发生危险增加相关,监测肺移植后 2 个月内 BALF 中 IL-8 加以支气管镜活检病理学也有助于 OB 高危群体的及早诊治。Elssner 等^[16] 定量分析了取自 BOS 患者和无 BOS 患者 BALF 样品中 IL-8 及刷检细胞 mRNA 水平, BOS 组明显升高,认为 IL-8 可能是 OB 发病机制中气道炎症和纤维性增生的重要介质之一。Reynaud-Gaubert 等^[10] 发现在 BOS 临床前期 BALF 中性粒细胞百分比和 IL-8 水平明显升高,平均在诊断前(307±266)天,支持 IL-8 在 OB 发病机制中发挥关键作用。Slebos 等^[11] 研究发现 OB 组 BALF 中 IL-8 升高明显,当采用灌洗液 IL-8 > 71.4 ng/L 作为分界点,对 OB 的敏感度 74.5%,特异度 83.3%。这些结果表明 IL-8 水平升高可能预示 BOS,其具有被用作 BOS 发病早期、敏感标志的潜能,纵向监测 IL-8 可能有助于在重塑能被逆转或改变的阶段更好地处理具有发生 OB 危险的患者。Mamessier 等^[4] 也发现肺移植受体并发 BOS 患者 IL-8 水平明显升高,并且和呼吸功能呈负相关。

3.3 IL-10 Elssner 等^[16] 分析有无 BOS 患者 BALF 结果显示,两组 IL-10 及刷检细胞 mRNA 水平差异无统计学意义。

3.4 IL-16 Laan 等^[17] 发现肺移植受体急性排斥时 BALF 中 IL-16 浓度较低,和可溶性白细胞介素 2 受体(sIL-2R)浓度呈负相关,但是,OB 时 BALF 中 IL-16 浓度没有改变,和淋巴细胞百分比或 sIL-2R 浓度不相关,表明在对抗急性排斥中

4 BALF 中生长因子的变化

4.1 TGF-β 一些研究已经发现肺移植术后气道阻塞发生前 BALF 中巨噬细胞产生的 TGF-β 异构体 TGF-β₁、TGF-β₂ 增加,认为 TGF-β 可能在 OB 发生中发挥作用。Jaumann 等^[18] 在取自 OB 患者 BALF 样本中,发现中性粒细胞数目明显增加和 TGF-β₁ 表达明显升高,通过体外上皮培养实验证实 OB 时中性粒细胞增多和 TGF-β₁ 上调同时存在,可能通过下调 SLPI 引起不能抑制 NE 活性,导致上皮进行性损伤。Elssner 等^[16] 对取自 BOS 患者和无 BOS 患者 BALF 样品分析 TGF-β 和刷检细胞 mRNA 水平,认为 TGF-β 也是 OB 患者气道炎症和纤维性增生的重要介质。

4.2 PDGF 是迄今发现的间质细胞最有效的有丝分裂原、趋化因子、蛋白合成刺激物。Hertz 等^[19] 报道 1 例肺移植后 OB 患者和另 1 例 OB 发生前患者 BALF 中 PDGF 水平升高。

4.3 IGF-1 是一种多肽,调节成纤维细胞生长和结缔组织形成。Charpin 等^[20] 发现 3 例肺移植后 OB 患者发生前 BALF 中 IGF-1 mRNA 表达增加,认为 IGF-1 在 OB 发病机制中发挥作用。

5 BALF 中趋化性细胞因子的变化

5.1 单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1) Reynaud-Gaubert 等^[10] 发现在 BOS 临床前期 MCP-1 早期上调,平均在诊断前(152±80)天,在气管闭塞前, MCP-1 水平始终高于 RANTES,其升高可能是 OB 发病机制中的一个因素。

5.2 RANTES Reynaud-Gaubert 等^[10] 发现在 BOS 临床前期 RANTES 同样上调,平均在诊断前(253±323)天,表明 RANTES 在 OB 发病机制中发挥作用, RANTES 水平升高可能预示 BOS,其具有被用作 BOS 发病早期、敏感标志的潜能。

5.3 IFN 诱导的单核因子(MIG)、IFN 诱导蛋白 10(IP-10)、IFN 诱导的 T 细胞化学趋化剂(ITAC) 是一组谷氨酰胺-亮氨酸-精氨酸(ELR)阴性 CXC 趋化性细胞因子,其相应配体为 CXCL9、CXCL10、CXCL11,通过 1 个 G 蛋白偶联受体 CXCR3 分享信号传递,对单核细胞有效的化学趋化剂,特异性激活 T 和 NK 细胞。Belperio 等^[21] 发现在肺移植急性和慢性排斥 BALF 中,这些趋化性细胞因子的水平较健康肺移植受体升高,对排斥有预测价值;分别为 77%、82%、50%,在排斥期间 MIG/CXCL9 和 IP-10/CXCL10 较 ITAC/CXCL11 可能重要。

6 BALF 中其他成分的变化

6.1 铁蛋白、游离铁 Baz 等^[22] 检测 10 例肺移植患者 BALF 和肺组织中铁浓度,发现铁蛋白主要积聚在巨噬细胞、间质、血管壁、细支气管上皮,血液中系统铁(血清铁蛋白和游离铁)负荷过多,可能使同种异体移植植物增加了金属介导的损伤和纤维化的危险,促进了 OB 发生。

6.2 弹性蛋白酶 一些学者检测 BALF 中弹性蛋白酶水平,发现其升高的时间和程度与 OB 临床症状中肺纤维化(通过透明质酸水平显示)和 FEV_{1.0} 下降相关,认为大量中性粒细胞释放弹性蛋白酶引起细支气管结构破坏,导致 OB 发生。Hirsch 等^[7] 发现 OB 患者 BALF 中 NE-API 复合物和 Met(O) 浓度明显升高,中性粒细胞增多。Elssner 等^[18] 认为中性粒细胞释放的 NE 负荷增加,结果 NE 和抑制 NE 的分子失

者和无 BOS 患者 BALF 中 TNF-α 及支气管刷检细胞 mRNA 水平有明显差别。

6.4 细胞黏附分子(CAM) Reynaud-Gaubert 等^[10]发现肺移植后 BOS 临床前期与发病后 BALF 中可溶性细胞间黏附分子(sICAM-1)和可溶性血管细胞黏附分子(sVCAM-1)水平无统计学意义。

6.5 淋巴细胞激活实验(PLT) 有些学者发现 OB 发生时出现以 BALF 细胞中 PLT 为基础供体特异性同种异体反应,支持它是慢性排斥,OB 是免疫调节的损伤形式。Reinsmoen 等^[23]进一步证实来自确诊 OB 的受体 BAL 源性细胞的 PLT 反应明确与供体 HLA I 类不同抗原有关(HLA-B44),PLT 是针对供体 HLA I 类抗原的反应。他还证实进行性 OB 与最低进展形式 OB 患者相比,BAL 源性淋巴细胞 PLT 反应模式截然不同,表明涉及不仅仅一个免疫过程或者也许不同的靶细胞。作为选择,这些临床发现和体外研究可能代表同一疾病过程的不同阶段。总之,这些结果表明在急性排斥和 OB 期间可能发生截然不同的免疫病理学事件。

总之,目前临床上 OB 的诊断主要依靠经支气管镜肺活检,尚缺乏早期发现和诊断临床前期 OB 的有效方法,因为早期诊断与预后良好相关,所以应该努力在临床前期发现 OB^[24]。通过 BAL 动态监测一些细胞成分和化学介质的变化,能够提供组织学资料的补充信息,观察同种异体肺移植后免疫性事件,早期提示 OB 病变的发生趋势,为尽早诊断、及时治疗打下基础,对治疗后的效果进行正确评价。但现有的研究资料还没有明确的结论,甚至有些还存在很大争议,这还需要继续积累总结临床资料,并结合基础研究,进行科学分析和充分论证,以便为临床提供可靠的、客观的诊断和治疗依据。

参考文献:

[1] Hosenpud JD, Bennet LE, Keck BM, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation; eighteenth official report[J]. J Heart Lung Transplant, 2001, 20(8): 805-815.

[2] Zhou H, Latham CW, Zander DS, et al. Pirfenidone inhibits obliterative airway disease in mouse tracheal allografts[J]. J Heart Lung Transplant, 2005, 24(10): 1577-1585.

[3] Glanville AR. The role of bronchoscopic surveillance monitoring in the care of lung transplant recipients[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2006, 27(5): 480-491.

[4] Mamessier E, Milhe F, Badier M, et al. Comparison of induced sputum and bronchoalveolar lavage in lung transplant recipients[J]. J Heart Lung Transplant, 2006, 25(5): 523-532.

[5] Belperio JA, Lake K, Tazelaar H, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome complicating lung or heart-lung transplantation[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2003, 24(5): 499-530.

[6] Husain S, Singh N. Bronchiolitis obliterans and lung transplantation; evidence for an infectious etiology[J]. Semin Respir Infect, 2002, 17(4): 310-314.

[7] Hirsch J, Elssner A, Mazur G, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome after (heart-) lung transplantation. Impaired antiprotease defense and increased oxidant activity[J]. Am J Respir Crit Care Med, 1999, 160(SPt1): 1640-1646.

[8] Elssner A, Vogelmeier C. The role of neutrophils in the pathogenesis of obliterative bronchiolitis after lung transplantation[J]. Transpl Infect Dis, 2001, 3(3): 168-176.

303-322.

[10] Reynaud-Gaubert M, Marin V, Thirion X, et al. Upregulation of chemokines in bronchoalveolar lavage fluid as a predictive marker of post-transplant airway obliteration[J]. J Heart Lung Transplant, 2002, 21(7): 721-730.

[11] Slebos DJ, Postma DS, Koeter GH, et al. Bronchoalveolar lavage fluid characteristics in acute and chronic lung transplant rejection[J]. J Heart Lung Transplant, 2004, 23(5): 532-540.

[12] Scholma J, Slebos DJ, Boezen HM, et al. Eosinophilic granulocytes and interleukin-6 level in bronchoalveolar lavage fluid are associated with the development of obliterative bronchiolitis after lung transplantation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 162(6): 2221-2225.

[13] Riise GC, Kjellstrom C, Ryd W, et al. Inflammatory cells and activation markers in BAL during acute rejection and infection in lung transplant recipients; a prospective longitudinal study [J]. Eur Respir J, 1997, 10(8): 1742-1746.

[14] Reynaud-Gaubert M, Thomas P, Gregoire R, et al. Clinical utility of bronchoalveolar lavage cell phenotype analyses in the postoperative monitoring of lung transplant recipients[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2002, 21(1): 60-66.

[15] Jonosono M, Fang KC, Keith FM, et al. Measurement of fibroblast proliferative activity in bronchoalveolar lavage fluid in the analysis of obliterative bronchiolitis among lung transplant recipients[J]. J Heart Lung Transplant, 1999, 18(10): 972-985.

[16] Elssner A, Jaumann F, Dobmann S, et al. Elevated levels of interleukin-8 and transforming growth factor-beta in bronchoalveolar lavage fluid from patients with bronchiolitis obliterans syndrome: proinflammatory role of bronchial epithelial cells. Munich Lung Transplant Group [J]. Transplantation, 2000, 70(2): 362-367.

[17] Laan M, Linden A, Riise GC. IL-16 in the airways of lung allograft recipients with acute rejection or obliterative bronchiolitis[J]. Clin Exp Immunol, 2003, 133(2): 290-296.

[18] Jaumann F, Elssner A, Mazur G, et al. Transforming growth factor-beta1 is a potent inhibitor of secretory leukoprotease inhibitor expression in a bronchial epithelial cell line. Munich Lung Transplant Group[J]. Eur Respir J, 2000, 15(6): 1052-1057.

[19] Hertz MI, Henke CA, Nakhleh RE, et al. Obliterative bronchiolitis after lung transplantation; a fibroproliferative disorder associated with platelet-derived growth factor[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1992, 89(21): 10385-10389.

[20] Charpin J, Stern M, Grenet D, et al. Insulinlike growth factor-1 in lung transplants with obliterative bronchiolitis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2000, 161(6): 1991-1998.

[21] Belperio JA, Keane MP, Burdick MD, et al. Critical role for CXCR3 chemokine biology in the pathogenesis of bronchiolitis obliterans syndrome[J]. J Immunol, 2002, 169(2): 1037-1049.

[22] Baz MA, Ghio AJ, Roggli VL, et al. Iron accumulation in lung allografts after transplantation[J]. Chest, 1997, 112(2): 435-439.

[23] Reinsmoen NL, Bolman RM, Savik K, et al. Differentiation of class I- and class II-directed donor-specific alloreactivity in bronchoalveolar lavage lymphocytes from lung transplant recipients[J]. Transplantation, 1992, 53(1): 181-189.

[24] Boehler A, Estenne M. Obliterative bronchiolitis after lung transplantation[J]. Curr Opin Pulm Med, 2000, 6(2): 133-139.