

肺移植相关闭塞性细支气管炎的免疫进展

唐光亮 综述, 范慧敏 审校

(同济大学附属东方医院心胸外科, 上海 200120)

【关键词】肺移植; 闭塞性细支气管炎; 同种(异体)免疫; 纤维化

【中图分类号】R 392.4 【文献标识码】A 【文章编号】1008-0392(2010)01-0112-04

闭塞性细支气管炎 (obstructive bronchiolitis, OB)是肺移植或心肺移植后一种进行性细支气管闭塞,小气道功能紊乱和呼吸受阻。临床上称为闭塞性细支气管炎综合症 (bronchiolitis obliterans syndrome, BOS),其发病机制较为复杂,包括免疫学和非免疫学因素及其他致病因素。病理学特点为近呼吸细支气管及其周围炎症和纤维增生,导致小气道管腔的闭塞。据国际心肺移植协会(The International Society for Heart & Lung Transplantation, ISHLT)统计数据,肺移植后,29个月OB的发生率为27%,67个月的发生率为51%^[1]。故针对移植后OB发病机制的研究,对于预防及其治疗有着重要的意义。

1 研究模型

肺移植相关OB研究的一个重要障碍,就是缺乏有效模拟OB病理生理学的动物模型。大鼠肺移植技术的可行性为研究OB带来了可能。早期有报道Fischer 344→Wistar Kyoto大鼠肺移植能够形成OB,后来的研究通过计算机断层扫描技术证实,该模型移植物内没有发生OB的病理改变^[2]。至今普遍认为大鼠和小鼠原位肺移植模型,由于在阻止急性排斥反应时免疫抑制剂的应用,而不能形成广泛的OB。

气管移植的操作简便性和可复制性,使其很好地代替肺移植进行OB的研究。早期的研究模型是

将一段完整的同种异系气管移植到小鼠背部皮下组织或者埋入腹部大网膜下,经过一段时间后能够观察到OB的形成。然而该模型不符合生理学特点且易受皮下或网膜的周围环境影响,其应用也受到一定的限制。斯坦福大学的研究^[3],Brown Norway→Lewis大鼠原位气管移植能够形成与人肺移植后OB相似的病理特征,移植后60d气道闭塞程度将近45%,认为是研究OB发生机制较为理想的实验模型。理想动物模型应该没有技术限制并且和肺的生理学,肺移植后急性慢性排斥反应的病理生理非常相似,当今还没有能完全符合这些标准的模型。

2 免疫介导的发病因素

2.1 细胞免疫和体液免疫

T细胞通过直接同种(异体)识别反应和间接同种(异体)识别反应两条途径参与移植排斥反应。在19例肺移植患者研究中,用受体外周血纯化的CD4+T细胞分别检测其对供体脾细胞的直接识别反应,和其对受者经抗原提呈细胞处理的供体脾细胞碎片的间接识别反应发现,发生OB的患者比未发生OB的患者间接识别反应更显著,直接识别反应在发生OB和未发生OB的患者中都存在。认为移植后排斥反应和OB的发生不仅是间接识别途径反应,还可能有一种过度的持续的直接识别反应。肺移植后CD4+T细胞和CD8+T细胞在急性排斥期

收稿日期: 2009-11-19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772150);上海市优秀学科带头人科研基金资助项目(08XD14033)

作者简介: 唐光亮(1983-),男,硕士研究生. E-mail: tangguangliang2003@yahoo.com.cn

通讯作者: 范慧敏. E-mail: frankfan64@hotmail.com

浸润到肺内,产生 IF- γ 等主要细胞因子导致以 Th1 细胞为主的免疫反应,增强了 OB 发生的风险。CD8+ T 细胞对移植物 MHC I 的直接识别反应,导致移植物的慢性破坏,继后发生气管移植气道闭塞。一部分浸润到肺内 CD4+T 细胞表达具有调节性 T 细胞表型的转录因子 Foxp3^[4],这种具有调节性 T 细胞表型的 CD4+T 细胞,可能具有阻止 Th1 细胞反应减轻移植物排斥反应发生的功能。

B 细胞产生的抗 MHC I 抗体增加了淋巴性细支气管炎和 OB 的风险。抗 MHC II 抗体由于生成数量少,其意义还不清楚。最近研究发现针对气道上皮细胞的非 MHC 抗原抗体,如抗 $\alpha 1$ 微管蛋白抗体,可以通过产生纤维增生性生长因子来刺激气道上皮细胞和增进纤维性增生反应^[5]。

介导肺内固有免疫和同种(异体)免疫反应的主要是树突状细胞(dendritic cell, DC)。抗原对 DC 特异性刺激决定了 T 细胞反应的特异性。DC 捕获抗原后移行到引流淋巴结,其表型发育成熟,上调表达 MHC II 和共刺激分子(CD80, CD86 和 CD40)有效激活 T 细胞^[6]。内源性和外源性配体能够激活 DC 表面 TLRs 而介导移植物的损伤。小鼠同种异系骨髓移植模型中,TLR4 受体激动剂 LPS 增强了固有免疫反应,导致肺内纤维化促进了 OB 的发生^[7]。人体肾移植患者中清除 DC 能够明显消除急性排斥反应,在另一小部分有移植物耐受患者中发现 DC 可能和免疫耐受有关^[8]。未成熟 DC 可能导致免疫耐受和激活调节性 T 细胞(Treg)或诱导 T 细胞无能^[9]。肺移植后影响 DC 共刺激分子表达,迁移和在淋巴结发育成熟及其产生耐受性的机制还不是很清楚。巨噬细胞,中性粒细胞,肥大细胞和 NK 细胞也和移植排斥有关。巨噬细胞分泌许多生长因子介导 OB 的纤维增殖。NK 细胞影响移植物慢性血管病变^[10]。肥大细胞可能具有负性免疫调节作用^[11]。

2.2 初期移植物失功和自身免疫反应

胶原蛋白 V 引起的自身免疫反应和初期移植物失功有关^[12-13],都参与了 OB 的发生。初期移植物失功是肺移植后早期并发症,可能和早期肺内隐蔽抗原的暴露有关,特征是急性肺损伤^[14]。移植期间暴露于免疫系统的胶原蛋白 V 可引起自身免疫反应,导致移植后急性肺损伤和慢性持续肺纤维化促进 OB 的发生。CD4+ T 细胞对胶原蛋白 V 免疫应答与

人肺移植术后 OB 发生率有一定关系,如 Th17 细胞产生的 IL-17 除参与病原体的炎症反应外,还和 TNF- α , IL-1 β 一起参与对胶原蛋白 V 的免疫应答。发生 OB 的患者比未发生 OB 的患者对胶原蛋白 V 有更强的免疫反应性,该免疫反应增加 OB 发生的风险比急性排斥反应,HLA 不匹配,或抗 HLA 抗体介导的损伤更强烈^[15-16]。

3 病理特征及其机制

3.1 气道的纤维变性

炎症和免疫介导的组织损伤可促进成纤维细胞过度激活,导致肺移植后小气道纤维变性。在一些纤维增生性疾病中可观察到成肌纤维细胞激活,导致细胞外基质集聚。人体肺移植中也有多种因素导致成肌纤维细胞数量增加促进 OB 的发生。研究发现肺移植体内有一部分成肌纤维细胞(15%~30%)是来源于受体外周血单核细胞中的纤维细胞^[17]。另外上皮细胞也可转化成间质细胞,即上皮细胞转分化成具有间质细胞表型的细胞(epithelialmesenchymal transition, EMT),如成纤维细胞,成肌纤维细胞^[18]。浸润在炎症组织中的巨噬细胞可产生纤维增生性生长因子,如 TGF- β 和血小板相关性生长因子(PDGF)。TGF- β 是成肌纤维细胞的一个重要分化和存活因子。Th2 细胞产生的 IL-13 可直接刺激细胞外基质和增加 TGF- β 的表达,发挥有效的纤维增殖作用^[19]。

正常气道上皮细胞可产生前列腺素 E2,抑制上皮 TGF- β 依赖的成纤维细胞激活。临床肺移植后,各种损伤和免疫抑制剂如环孢素 A,他克莫司等,会妨碍正常上皮细胞的再生。体液免疫和强烈的细胞免疫损伤上皮细胞,抗 HLA I 抗体激活气道上皮细胞产生纤维化生长因子和诱导上皮细胞凋亡。如果细支气管上皮细胞严重损坏,可降低其对成纤维细胞的固有抑制作用,导致肺内过度纤维性反应和小气道破坏性纤维瘢痕的形成^[20]。

3.2 微血管内皮损伤

免疫介导的血管内皮细胞损伤,引起血管内皮炎和终末小动脉小静脉纤维性变窄,影响微血管系统血液供应导致缺血性损伤,最终影响移植物小气道的自身修复和维持通畅。移植后针对血管内皮细胞的免疫反应,激活了一系列炎症介质,如 TGF- β 的上调导致纤维结合蛋白和溶胶原的增加,胶原蛋

白的下调导致细胞外基质沉积和促进纤维化变性。成纤维细胞释放氧化亚氮促进 VEGF 的转录。VEGF 在移植后早期可能促进上皮细胞增殖维持上皮细胞屏障,还可促进单核炎症细胞的趋化导致腔内瘢痕的形成和闭塞性气道疾病的发生^[21]。阻断 VEGF 和血小板衍生的生长因子可以防止气管移植物的腔内堵塞。Okazaki 等^[22]在小鼠原位肺移植模型中观察到,气道上皮细胞抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达增加可保护上皮细胞,单纯的血管排斥反应不足以引起内皮细胞损伤,感染,胆汁返流和肺表面活性物质减少都参与了上皮细胞的损伤。

研究鼠类原位气管移植微血管损伤和气道上皮细胞之间的关系发现,经历了缺血再灌注损伤的移植血管内皮细胞若未被损坏,免疫抑制剂的应用可以治疗损伤的移植血管^[23]。动物模型和人体内发现肺移植后血管重塑也是发生 OB 的因素。血管重塑包括血管硬化和异常血管形成。对 50 多例肺移植患者进行回顾性分析发现,发生 OB 的患者肺动脉高压和血管重塑要较普遍^[24]。肺移植期间施行支气管动脉成形术可以延缓 OB 发生,但移植血管内微血管损伤仍可以引起血管成形术无效和纤维化的发生。

4 诊断及免疫治疗

肺移植相关闭塞性细支气管炎的早期诊断有利于肺功能稳定,但在临床上诊断非常困难。目前,临床上利用影像学技术和组织病理特点虽然有助于 OB/BOS 的诊断,但经支气管镜肺组织活检仍是确诊 OB 的唯一方法。ISHLT 根据肺功能的变化对 BOS 进行了定义并制定了详细的分期用于临床上 BOS 的诊断^[25]。移植后,不可逆的 FEV₁ 下降超过该平均值的 20%即可定义为 BOS。BOS 分期标准为:(1) BOS0 基础 FEV₁ 值 90%以上及基础 FEV₁25%~75%值 75 以上;(2) BOS0-p 基础 FEV₁ 值 81%~90%和/或基础 FEV₁25%~75%值 75 以下;(3) BOS1 基础 FEV₁ 值 66%~80%;(4) BOS2 基础 FEV₁ 值 51%~65%;(5) BOS3 基础 FEV₁ 值 50%以下。

关于移植相关 OB 的治疗,至今世界仍没有统一的标准,主要治疗措施是扩大和调整免疫抑制,包括糖皮质激素,各种抗淋巴细胞抗体,环孢菌素 A,他克莫司,甲氨蝶呤,环磷酰胺,西罗莫司,全身淋巴

结照射。这些治疗虽然可以延缓部分患者肺功能的恶化,但并没有明确证据表明能够改变移植相关 OB 的病程。移植后排斥反应的发生及严重程度与 OB 的发生有重要的关系,早期、积极的应用免疫抑制剂预防或减轻排斥反应也许能减少 OB 的发生。同时仍需特别谨慎扩大免疫抑制治疗,因为免疫力降低可使受体机会感染可能性增加,这可能会加剧肺功能的衰竭,甚至导致死亡。

5 结 语

肺是一个涉及到粘膜防御和气体交换的复杂器官。同种(异体)免疫反应,自身免疫反应,急性缺血再灌注损伤,感染和环境损伤等都促进了肺移植后 OB 的发生。肺移植的未来是仔细研究这些损伤引起的有害免疫反应及其调节机制。正如抵抗病原体不能仅仅依靠抗生素那样,肺移植也不能仅仅靠免疫抑制剂,需要不断创新研究方法,阐明肺内更多的免疫应答和免疫耐受机制来改善肺移植后的效果。

【参考文献】

- [1] Christie JD, Edwards LB, Aurora P, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fifth official adult lung and heart/lung transplantation report-2008[J]. J Heart Lung Transplant, 2008,27(9):957-969.
- [2] Hirschburger M, Greschus S, Kuchenbuch T, et al. Lung transplantation in the Fischer 344→Wistar Kyoto rat strain combination is not suitable to study bronchiolitis obliterans[J]. J Heart Lung Transplant, 2007,26(4):390-398.
- [3] Deuse T, Schrepfer S, Eichenspurner H, et al. Techniques for experimental heterotopic and orthotopic tracheal transplantations-When to use which model?[J]. Transpl Immunol, 2007,17(4):255-261.
- [4] Bharat A, Kuo E, Steward N, et al. Immunological link between primary graft dysfunction and chronic lung allograft rejection[J]. Ann Thorac Surg, 2008,86(1):189-195.
- [5] Goers TA, Ramachandran S, Aloush A, et al. De novo production of K- α 1 tubulin-specific antibodies: role in chronic lung allograft rejection[J]. J Immunol, 2008,180(7):4487-4494.

- [6] Gelman AE, Okazaki M, Lai J, et al. CD4+ T lymphocytes are not necessary for the acute rejection of vascularized mouse lung transplants[J]. *J Immunol*, 2008, 180(7):4754-4762.
- [7] Garantziotis S, Palmer SM, Snyder LD, et al. Alloimmune lung injury induced by local innate immune activation through inhaled lipopolysaccharide[J]. *Transplantation*, 2007, 84(8):1012-1019.
- [8] Solari MG, Thomson AW. Human dendritic cells and transplant outcome[J]. *Transplantation*, 2008, 85(11):1513-1522.
- [9] Hammad H, Lambrecht BN. Dendritic cells and epithelial cells: linking innate and adaptive immunity in asthma[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(3):193-204.
- [10] Fildes JE, Yonan N, Tunstall K, et al. Natural killer cells in peripheral blood and lung tissue are associated with chronic rejection after lung transplantation [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2008, 27(2):203-207.
- [11] Galli SJ, Grimbaldston M, Tsai M. Immunomodulatory mast cells: negative, as well as positive, regulators of immunity[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(6):478-486.
- [12] Bobadilla JL, Love RB, Jankowska-Gan E, et al. Th-17, monokines, collagen type V, and primary graft dysfunction in lung transplantation[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2008, 177(6):660-668.
- [13] Iwata T, Philipovskiy A, Fisher AJ, et al. Anti-type V collagen humoral immunity in lung transplant primary graft dysfunction[J]. *J Immunol*, 2008, 181(8):5738-5747.
- [14] Huang HJ, Yusef RD, Meyers BF, et al. Late primary graft dysfunction after lung transplantation and bronchiolitis obliterans syndrome[J]. *Am J Transplant*, 2008, 8(11):2454-2462.
- [15] Ouyang W, Kolls JK, Zheng Y. The biological functions of T helper 17 cell effector cytokines in inflammation[J]. *Immunity*, 2008, 28(4):454-467.
- [16] Burlingham WJ, Love RB, Jankowska-Gan E, et al. IL-17-dependent cellular immunity to collagen type V predisposes to obliterative bronchiolitis in human lung transplants[J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(11):349-506.
- [17] Brocker V, Langer F, Fellous TG, et al. Fibroblasts of recipient origin contribute to bronchiolitis obliterans in human lung transplants[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 173(11):1276-1282.
- [18] Ward C, Forrest IA, Murphy DM, et al. Phenotype of airway epithelial cells suggests epithelial to mesenchymal cell transition in clinically stable lung transplant recipients[J]. *Thorax*, 2005, 60(10):865-871.
- [19] Keane MP, Gomperts BN, Weigt S, et al. IL-13 is pivotal in the fibro-obliterative process of bronchiolitis obliterans syndrome[J]. *J Immunol*, 2007, 178(1):511-519.
- [20] Nicod L.P. Mechanisms of airway obliteration after lung transplantation[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2006, 3(5):444-449.
- [21] Tikkanen JM, Hollmen M, Nykanen AI, et al. Role of platelet-derived growth factor and vascular endothelial growth factor in obliterative airway disease[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2006, 174(10):1145-1152.
- [22] Okazaki M, Gelman AE, Tietjens JR, et al. Maintenance of airway epithelium in acutely rejected orthotopic vascularized mouse lung transplants[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2007, 37(6):625-630.
- [23] Babu AN, Murakawa T, Thurman JM, et al. Microvascular destruction identifies murine allografts that cannot be rescued from airway fibrosis [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(12):3774-3785.
- [24] Belperio JA, Keane MP, Burdick MD, et al. Role of CXCR2/CXCR2 ligands in vascular remodeling during bronchiolitis obliterans syndrome [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(5):1150-1162.
- [25] Estenne M, Maurer JR, Boehler A. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2002, 21(3):297-310.