

细胞因子与肺移植

蒋 萍 陶家驹

【摘 要】 肺移植术后存在缺血再灌注损伤、感染、排异、原发性移植肺功能衰竭等尚待解决的问题。选择素、整联蛋白、IL-4、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子、IFN- γ 等细胞因子在上述复杂的病理生理过程中发挥着重要作用。对细胞因子的监测有助于预测术后并发症的发生, 评价其严重程度, 并为寻找解决办法提供理论依据。

【关键词】 细胞因子; 肺移植

对于各种终末期肺疾患来说, 肺移植是目前唯一可行的治疗方法, 随着手术技术、抗排异反应和术后护理技术的提高, 肺移植患者的短期生存率已达 90%。和其他器官移植一样, 除了供体严重短缺外, 肺移植也存在许多尚待解决的问题, 如缺血再灌注损伤、感染、排异、原发性移植肺功能衰竭等。细胞因子的研究可能对上述复杂的病理生理过程有所帮助。事实上在临床肺移植工作中, 细胞因子的检测已成为协助诊断和治疗的重要工具。本文将就细胞因子在肺移植中的角色和地位进行阐述。

1 缺血再灌注损伤

在所有器官移植中, 肺同种异体移植发生缺血再灌注损伤的比率最高, 也是发生早期移植物功能衰竭的主要原因^[1]。除了要延长机械通气时间、增加住院率外, 缺血再灌注损伤还会增加急、慢性排异反应的危险性^[2]。近年来, 许多研究表明细胞因子与缺血再灌注损伤存在密切联系^[3]。

许多缺血后损伤的病理生理过程均可看作是内皮系统功能紊乱的结果。血管内皮系统在急性肺损伤中的作用十分活跃。病理过程早期, 中性粒细胞随血流快速注入产生瘀积并黏附在内皮细胞表面, 随后渗出到血管外间隙。白细胞吸附到血管内皮细胞表面标志着损伤过程的最后阶段。白细胞迁徙的每一个过程均与内皮细胞和白细胞的表面分子的特殊作用有关, 它们包括: 选择素、整联蛋白和免疫球蛋白超家族。

选择素和整联蛋白属于黏附分子系列。选择素与细胞表面的葡萄糖蛋白有很强亲和力。L-选择素由所有循环中的白细胞持续表达, 是细胞间相互连接的原始工具^[4]。在补体或 TNF- α 刺激后, L-选择素从细胞表面脱落, 随后可在外周血中检测到。P-选择素由内皮细胞和血小板表达, 正常时处于静止状态, 在同类细胞因子刺激下表达可以上调。P-

选择素可以促进中性粒细胞、内皮细胞和血小板的早期相互作用。E-选择素只有在 IL-1、TNF- α 刺激内皮细胞时才被表达, 在同种异体抗原刺激下表达上调。在炎症过程早期, 选择素参与了白细胞与内皮细胞黏附受体结合的过程。由选择素促成的这种黏附作用是短暂和微弱的, 其主要作用是减慢白细胞流动, 并将其暴露于内皮细胞表面分子。

整联蛋白, 包括细胞间黏附分子 ICAM、纤维蛋白原、淋巴细胞功能相关性抗原 (LFA1), 是一个在血小板和内皮细胞表面表达的细胞表面糖蛋白家族, 可以介导白细胞黏附过程, 它们在黏附、细胞间信号传递和 T 细胞增生调节方面发挥作用^[5]。已知有 5 种整联蛋白参与白细胞黏附: VLA-4、LPAM-1、LFA-1、MAC-1 和 P150, 95。后三种为 β_2 整联蛋白, β_2 整联蛋白通过 ICAM1, 2, 3 介导缺血再灌注的最早期的病理过程。ICAM-1 在肺毛细血管内皮细胞、肺泡连接细胞和肺泡巨噬细胞表面广泛表达; ICAM-2 由肺毛细血管内皮细胞表达; ICAM-3 只由白细胞表达。当暴露于 TNF- α 、IL-1、IFN- γ 时, ICAM-1 在内皮细胞表面的表达上调并能维持 24 小时; 相反, ICAM-3 的上调是短暂的, 且受特殊免疫诱导的限制。当暴露于 IL-8、TNF- α 和补体后 MAC-1 表达上调。P150, 95 和 MAC-1 在细胞因子、单核细胞趋化蛋白 (MCP-1)、RENTES 的刺激下表达上调^[6]。

在细胞水平研究中, 缺血再灌注损伤的关键步骤即为内皮细胞与白细胞的相互作用。各种刺激使内皮细胞活化, 诱导 P-选择素、E-选择素和 ICAM-1 表达上调。中性粒细胞持续表达的 L-选择素使中性粒细胞的流动减慢便于黏附。IL-8 和 TNF- α 调节黏附和活化反应。如果白细胞这种短暂的附着暴露于各种活化信号, 如血小板活化因子, 则 L-选择素脱落, 具有高亲和力的 MAC-1 被表达。若要进

植过程中,白细胞是缺血再灌注损伤发生、发展的关键。实验室和临床数据均表明,白细胞衰竭可以使早期的缺血再灌注损伤得到改善。白细胞衰竭和阻断白细胞附着可用于处理缺血再灌注^[7]。

在分子水平研究中,同种异体肺移植的动物实验显示,缺血再灌注损伤可以引起 IL-2、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 水平增高^[8]。通过 MHC-II 型抗原表达上调、局部细胞因子释放,缺血再灌注损伤可能会倾向于发展成急性排异反应。Pham 等^[9]测定了再灌注前、再灌注后 4 小时、再灌注后 24 小时血清中 IL-6 的水平,以评价 IL-6 对缺血再灌注损伤的预见性。结果显示,再灌注后 4 小时血清中 IL-6 的水平达高峰,移植后 24 小时回落到基线。根据 4 小时后血清 IL-6 水平超过 1000pg/ml 或小于 500pg/ml,将患者分为 I 组和 II 组。I 组患者插管时间长,PaO₂/PAO₂ 比率低,弥漫性肺泡损伤发生率高,与 II 组相比移植成活率低。这些数据提示,移植后第一个 24 小时内血清中 IL-6 的水平与临床移植过程中缺血再灌注损伤有关。目前,缺血再灌注损伤仍是肺移植的主要障碍,随着分子水平、细胞水平研究的不断完善,尽早逾越这道鸿沟。

2 细胞因子与肺移植后的急性排异反应

尽管对患者进行了全身性的免疫抑制,肺移植后急性细胞排异(ACR)的发生率仍然很高(21 天时达 90%)。ACR 的影像学特征为肺浸润,临床表现为呼吸急促、呼吸困难和缺氧。临床诊断主要靠气道活检。虽然没有排异反应的客观证据,但临床高度怀疑 ACR 时,应进行试验性治疗。传统上常采用短期增加免疫抑制剂用量的治疗方法,包括激素冲击或使用抗淋巴细胞免疫球蛋白,但效果并不理想,而且这些治疗有许多副反应,其中 49% 的患者在接受抗胸腺细胞球蛋白后发生严重的感染。肺脏是一个高度的致免疫器官,与其他器官移植相比排异反应出现的早且进展迅速。气道局部缺血、肺实质保存过程中的损伤,加之再灌注水肿和细胞坏死,激发了最早期的非特异性炎症过程。在与气管相关的淋巴组织中,大量带有 MHC II 型细胞表面抗原的白细胞活化,导致了同种异体肺移植的早期免疫反应。巨噬细胞和中性粒细胞的聚集是早期排异反应发生的非特异性信号。ACR 过程中,细胞从外周到达移植植物,并在周围细胞因子和 NO 的环境中成熟。细胞活化、细胞因子分泌、敏感 T 细胞分化和成熟引起的特异性反应提示细胞因子在同种异体排异反应中的重要调节作用。移植后 4 周可以在移植

细胞增生,受体炎性细胞释放的各种前炎性细胞因子,促进了巨噬细胞的扩增和供体特异性 T 细胞、B 细胞的同源性扩增。巨噬细胞和细胞毒性 T 细胞通过释放细胞因子、粒酶、穿孔蛋白和 NO 进一步扩展急性排异反应,破坏靶器官^[10]。

研究显示^[11],在排异反应中 IL-4 和 IL-6 基因的转录水平明显增高,而 IL-1 和 IFN- γ 在肺感染时表达水平升高。在肺感染时,IL-4 的转录不是基因相关性的,提示这种特殊的细胞因子在不同的反应中扮演的角色不同。值得注意的是,细胞因子在 BALF 和外周血白细胞中的基因表达存在明显的差别。Humbert 等^[12]检测了 27 例肺移植患者血清和 BALF 中 IL-6 的浓度,将患者分为三组:对照组(既无感染也无排异反应);排异反应组;CMV 肺炎组(CMVP)。在血清中,排异组 IL-6 水平虽高于对照组,但无统计学意义;肺炎组 IL-6 的水平则显著高于对照组。在 BALF 中,与对照组相比,CMVP 组 IL-6 水平增高,排异组则降低;在 CMVP 时,肺泡细胞可以在局部产生 IL-6。但是研究者没有发现血清和 BALF 中 IL-6 水平之间的联系,提示血清中 IL-6 的水平并不能反映肺内 IL-6 的情况。该研究还显示,CMVP 组血清中有高水平的 TNF- α 和可溶性 TNF 受体。Magnan 等^[13]检测了五组肺移植患者(急性排异反应-AR;CMVP;阻塞性细支气管炎-OB;细菌性肺炎-BP;对照-无排异、无 OB、无感染)肺泡巨噬细胞(AM)上清液中的 IL-6 和 TNF- α 。AR 时 AM 分泌的 IL-6 和 TNF- α 升高,15 天后回到基础水平。在 CMVP 时可以观察到类似的改变,但回到基础水平需要 30 天时间。在 BP 组,细胞因子水平要高于对照组,但要低于 AR 及 CMVP 组。而 OB 组细胞因子的分泌则与对照组无明显差异。IL-6 和 TNF- α 的分泌水平间有很强的相关性。Iacono 等^[14]发现与无排异反应的患者及对激素敏感的排异反应患者相比,对激素抵抗的排异反应患者的 IL-6 和 IFN- γ mRNA 的表达显著增高。当雾化吸入环孢素后可以观察到 BALF 细胞和外周血白细胞的 IL-6 和 IFN- γ 的基因表达下调。

近年来研究显示^[15-17],在 CMVP 或排异反应的肺移植患者的 BALF 的巨噬细胞中存在大量的 RANTES(regulated upon activation, normally T-cell expressed and secreted),即正常 T 细胞表达和分泌的一种蛋白,对巨噬细胞、记忆性 T 细胞和嗜酸性细胞有趋化作用,它可以由 T 细胞、血小板、肾

在肺内的聚集。IFN- γ 和 TNF- α 激活肺巨噬细胞, 促进 RANTES 的分泌, 后者参与 T 细胞和巨噬细胞从外周循环中的募集。在肺排异反应中, RANTES 及内皮细胞黏附分子表达上调对局部免疫细胞的聚集有非常重要的作用。此外, 在排异反应和 CMVP 过程中, BALF 中淋巴细胞和巨噬细胞表达的穿孔蛋白(溶解蛋白前体)和粒酶增高, 且其表达水平与排异反应的严重度有关。另有数据显示, 在急性排异反应过程中 IL-2、IL-6 和 IFN- γ 的基因表达增高。

3 细胞因子与移植肺感染

感染仍是肺移植的一个重要问题。Griffith 等^[18] 对 232 例肺移植患者进行了 10 年的观察, 发现其中 38% 死于感染, 70% 至少发生一次严重感染, 80% 的感染发生在移植肺。革兰阴性菌肺炎是最常见的(33%), 其次为 CMV (21%), 埃波斯坦病毒感染占 5%, 真菌感染占 8%, 但其致死率高, 约占 93%, 最常见的真菌感染为白色念珠菌、隐球菌和曲霉菌。

在感染并发症中, 有关 CMV 感染的研究最多。一是因为其发病率高, 更主要的是因为其慢性排异反应有关。在肺移植患者中其发病率为 15% ~ 20%。供体、受体间 CMV 血清学不匹配是导致 CMV 传播的主要原因。CMV 感染通常是由于潜在感染的再复活。供体和受体 CMV 抗体阳性预示着 90 天内有很高的死亡风险。CMV 可以引起视网膜炎、肺炎、穿孔性肠炎、肝炎等。

Geist 等^[19] 证明, CMV 感染时移植肺内细胞因子的基因表达上调是发生慢性排异反应的重要原因。CMV 可引起如 TNF- α 、IL-1、IL-2 等细胞因子的表达。Steinhoff 等^[20] 研究了小鼠肺移植模型, 发现感染 CMV 后肺内皮细胞的 ICAM-1、VCAM-1 和 MHC II 型黏附分子水平上调; 与未感染的对照组相比, 发生感染移植肺的肺泡间质的 CD11a+ (LFA-1)、CD49d+ (VLA-4) 白细胞增多, 提示肺移植后 CMV 感染导致内皮系统活跃和 CD11a+/CD49d+ 白细胞浸润。同时还发现 CMV 感染可以引起内皮细胞、肺泡细胞和白细胞的主要组织相容性 II 型抗原的表达增强, 增加肺组织活化的巨噬细胞的聚集。在肺移植的临床研究中, 发现 CMVP 使 IL-1、IL-6、TNF- α 、TNF 受体和 RANTES 表达上调。以上数据表明 CMV 感染可以通过上调细胞因子触发或促进急性排异反应; 另一方面, 排异反应释放的细胞因子可以使潜在的 CMV 复活, 导致急性

中 CMV 增强子区域的活性, 也支持上述观点^[21]。

肺移植患者易于感染主要是由于免疫抑制剂的作用及肺防御功能的损伤。肺防御机制的主要成分是肺泡 AM。在肺移植过程中, 肺泡巨噬细胞的功能受到破坏。在鼠肺移植模型中, 移植肺 AM 产氧基的能力明显低于正常对照组。虽然移植肺的 AM 在感染和排异反应发生时仍具有分泌 TNF- α 的能力, 但与对照组相比能力下降。与正常对照相比, 肺移植患者的 AM 在 LPS 刺激下分泌 TNF- α 的能力明显下降。健康肺受体 AM 细胞受刺激后产生的 TNF- α 要明显高于发生感染或急慢性排异反应时。Wilkes 等^[22] 观察了移植肺和对照组 AM 诱导外周血单核细胞产生 IgG 的能力, 发现对照组 AM 可诱导同源 PBM 剂量依赖的 IgG 分泌, 而同种移植肺则高度抑制 IgG 的产生, 这是由于同种移植肺 AM 的功能损伤。因为 AM 在细胞免疫和体液免疫反应中均扮演重要角色, 所以 AM 功能可能会使移植肺易于感染。

4 细胞因子与阻塞性细支气管炎

肺移植的一个主要并发症是阻塞性细支气管炎(OB)综合征, 它限制了肺移植的发展。OB 是慢性排异反应的一个表现, 它的特点是进行性肺功能损伤, 最终导致死亡。存活期大于 1 年的患者中 50% 会发生 OB。合并 OB 的移植肺, 在病理组织学方面出现严重的纤维增生, 在黏膜下层和呼吸性细支气管出现斑块, 引起气道完全或部分阻塞。如果细支气管内或细支气管外周有单核细胞浸润则为活动期, 否则为非活动期。虽然 OB 的原因尚不知晓, 但普遍认为 OB 是反复感染、排异及气道炎症的最终结果。

虽然移植肺气道缺血可能是导致 OB 的原因, 但有许多证据表明 OB 是与慢性排异有关的免疫现象。近来研究发现^[23] OB 患者的 BALF 中有大量的中性粒细胞, 与其中的 IL-8 水平高度相关。而且 IL-8 的水平升高先于 OB 的生理学改变, IL-8 在 OB 的进展过程中扮演了重要角色, 是 OB 综合征早期诊断的标志。在其它研究中观察了急性排异反应(AR)、CMVP 和 OB 过程中移植肺 AM 的 IL-6 和 TGF- β 的水平, 在 AR 和 CMVP 时, IL-6 分泌增加; 当 IL-6 回到基线水平时, TGF- β 则显著升高。在 OB 时, IL-6 的分泌未见增高, 而 TGF- β 分泌增加, 且发生在功能异常之前。这些结果提示, 当肺移植发生急性并发症时, AM 分泌的 IL-6 水平增高预

外基质的表达。AM 分泌的 TGF- β 和 PDGF 参与了肺纤维化的过程。在发生 OB 之前就可以观察到 PDGF 水平增高。以上数据提示 PDGF 和 TGF- β 与 OB 的发生、发展密切相关。因为环孢素可以诱导 TGF- β 的分泌,所以长期全身应用环孢素可以导致类似慢性肺排异反应的组织学和功能上的变化:进行性肺纤维化和阻塞^[24-27]。

总之,OB 的发病机制尚未完全明了,目前认为是自身免疫反应起了非常重要的作用。而缺血再灌注损伤、反复发生的排异和感染促进了这种反应的发展,最终导致了前炎性细胞因子和生长因子的释放,引起纤维斑块形成和气道阻塞。对细胞因子网络的进一步研究将有助于解决这一问题。

以上仅对肺移植过程中常见的比较重要的几个并发症与细胞因子的关系进行了阐述,事实上细胞因子网络是一个庞大的体系,它渗透到肺移植过程中的每一个病理生理改变,对细胞因子的深入研究势必会为提高肺移植的成功率提供很大的帮助。

参 考 文 献

- Kirk AJ, Colquhoun IW, Dark JH. Lung preservation: a review of current practice and future directions. *Ann Thorac Surg*, 1993, 56(4): 990-1000.
- Waddel TK, Gorczynski RM, DeCampos KN, et al. Major histocompatibility complex expression and lung ischemia-reperfusion in rats. *Ann Thorac Surg*, 1996, 62(3): 866-872.
- Kapelanski DP, Jamieson SW. Lung preservation. In: Franco KL, ed. *Pediatric cardiopulmonary transplantation*. Armonk, New York: Futura Publishing, 1997: 195-254.
- Picker LJ, Warnock RA, Burns AR, et al. The neutrophil selection LECAM-1 presents carbohydrate ligands to the vascular selecting ELAM-1 and GMP-140. *Cell*, 1991, 66(5): 921-933.
- Milne DS, Gascoigne AD, Wilkes J, et al. MHC class II and ICAM-1 expression and lymphocyte subsets in transbronchial biopsies from lung transplant recipients. *Transplantation*, 1994, 57(12): 1762-1766.
- Vaddi K, Newton RC. Regulation of monocyte integrin expression by beta family chemokines. *J Immunol*, 1994, 153(10): 4721-4732.
- Moore TM, Khimenko P, Adkins WK, et al. Adhesion molecules contribute to ischemia and reperfusion-induced injury in the isolated rat lung. *J Appl Physiol*, 1995, 78(6): 2245-2252.
- De Perrot M, Young K, Imai Y. Recipient T cells mediate reperfusion injury after lung transplantation in the rat. *J Immunol*, 2003, 171(10): 4995-5002.
- Pham SM, Yoshida Y, Aeba R, et al. Interleukin-6, a marker of preservation injury in clinical lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*, 1992, 11(6): 1017-1024.
- Zuo XJ, Matsumura Y, Prehn J, et al. Cytokine gene expression in rejection and tolerant rat lung allograft models: analysis by

- human lung transplant recipients. *Transplantation*, 1993, 56(4): 956-961.
- Humbert M, Delattre RM, Fattal S. In situ production of interleukin-6 within human lung allografts displaying rejection or cytomegalovirus pneumonia. *Transplantation*, 1993, 56(3): 623-627.
- Magnan A, Mege JL, Reynaud M. Monitoring of alveolar macrophage production of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-6 in lung transplant recipients. *Am J Respir Crit Care Med*, 1994, 150(3): 684-689.
- Iacono AT, Smaldone GC, Keenan RJ, et al. Dose-related reversal of acute lung rejection by aerosolized cyclosporine. *Am J Respir Crit Care Med*, 1997, 155(5): 1690-1698.
- Monti G, Magnan A, Fattal M, et al. Intrapulmonary production of RANTES during rejection and CMV pneumonitis after lung transplantation. *Transplantation*, 1996, 61(12): 1757-1762.
- Marfaing-Koka A, Devergne O, Gorgone G, et al. Regulation of the production of the RANTES chemokine by endothelial cell. Synergistic induction by IFN- γ plus TNF α and inhibition by IL-4 and IFN- γ . *J Immunol*, 1995, 154(4): 1870-1878.
- Baeon KB, Premack BA, Gardner P, et al. Activation of dual T-cell signaling pathways by the chemokine RANTES. *Science*, 1995, 269(5231): 1727-1731.
- Griffith BP, Hardesty RL, Armitage JM, et al. A decade of lung transplantation. *Ann Surg*, 1993, 218(3): 310-318.
- Geist LJ, Monick MM, Stinski MF, et al. The immediate early genes of human cytomegalovirus upregulate tumor necrosis factor-alpha gene expression. *J Clin Invest*, 1994, 93(2): 474-480.
- Steinhoff G, You XM, Steinmuller C, et al. Enhancement of cytomegalovirus infection and acute rejection after allogeneic lung transplantation in the rat: virus-induced expression of major histocompatibility complex class II antigens. *J Heart Lung Transplant*, 1996, 15(11): 1108-1119.
- Fietze E, Prosch S, Reinke P, et al. Cytomegalovirus infection in transplant recipients: the role of tumor necrosis factor. *Transplantation*, 1994, 58(6): 675-680.
- Wilkes DS, Neimeier M, Mathur PN, et al. Effect of human lung allograft alveolar macrophages on IgG production: immunoregulatory role of interleukin-6. *Am J Respir Cell Molecular Biol*, 1995, 13(5): 621-628.
- Rao JN, Clark SC, Ali S. Improvements in lung compliance after pulmonary transplantation: correlation with interleukin-8 expression. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2003, 23(4): 497-502.
- Lu KC, Jaramillo A, Lecha RL. Interleukin-6 and interferon-gamma gene polymorphisms in the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Transplantation*, 2002, 74(9): 1297-1302.
- Reynaud-Gaubert M. Pathophysiology of obliterative bronchiolitis in lung transplants. *Rev Mal Respir*, 2003, 20(2 Pt 1): 224-232.
- Daddi N, Kanaan SA, Suda T. Recipient intramuscular administration of naked plasmid TGF-beta1 attenuates lung graft reperfusion injury. *J Heart Lung Transplant*, 2003, 22(12): 1323-1334.
- Aris RM, Walsh S, Chalemkulrat W. Growth factor upregulation during obliterative bronchiolitis in the mouse