

心脏移植免疫耐受研究进展

栗一帆 综述 邓勇志 审校

(山西医科大学第二医院心胸外科, 山西 太原 030001)

Immune Tolerance Progress in Heart Transplantation

LI Yi fan DENG Yong zhi

(Department of Cardiothoracic Surgery The Second Teaching Hospital of Shanxi Medical University Taiyuan 030001 China)

文章编号: 1004-3934(2008)04-0554-03

中图分类号: R392.4 R654.2 文献标识码: A

摘要: 免疫排斥反应是影响心脏移植术后存活率的最重要因素, 应用免疫抑制剂具有不同的毒副作用, 诱导免疫耐受是解决心脏移植术后排斥反应的最佳手段。目前诱导免疫耐受的方法有: 胸腺内注射、供者特异性输血、主要组织相容性复合物作用、阻断 T 细胞活化协同刺激信号、调节性 T 细胞作用等。现就以上几方面的最新进展进行综述。

关键词: 胸腺内注射; 供者特异性输血; 主要组织相容性抗原; 调节性 T 细胞

Abstract: Immune system rejection plays a critical role in a patient's survival after heart transplantation. Immunosuppressive therapy has various side effects. However, induced immune tolerance is regarded as the best method to minimize rejection after heart transplantation. Currently, the methods used to induce immune tolerance include intrathymic injection, donor specific transfusion, major histocompatibility antigen action, block T cell activation co-stimulatory signal and regulatory T cell action. This article reviews recent progress in these methods.

Key words: immune system rejection; heart transplant; intrathymic injection; donor specific transfusion; major histocompatibility antigen; regulatory T cell

心脏移植作为晚期心力衰竭有效的治疗手段, 在全世界广泛开展。免疫抑制剂虽然对急性排斥反应有效, 但对慢性排斥反应效果不佳。由于免疫抑制剂缺乏特异性且有不同的毒副作用, 患者需终身用药, 这不仅会导致严重的机会感染和恶性肿瘤的发生, 而且长期使用免疫抑制剂所引起的移植器官血管病变最终可导致移植体丧失。诱导移植免疫耐受是解决这些难点的希望, 是当前移植的研究热点, 是解决排斥问题的最佳手段。

1 胸腺内注射

胸腺在 T 细胞的成长分化中起着非常关键的作用。由造血组织来源的淋巴干细胞均需在胸腺内经过阳性和阴性选择, 阴性选择过程中胸腺皮质和髓质交界处的巨噬细胞和树突状细胞 (dendritic cells DC) 表达高水平的主要组织相容性复合物 (MHC) -I 和 MHC-II 类抗原, MHC-II 类抗原与自身抗原肽形成复合物。经过阳性选择的胸腺细胞如能与此复合物高亲和力结合, 即被激活而发生程序性死亡; 不能识别该复合物的 T 细胞继续发育成为能识别外来抗原的单阳性 T 细胞, 即只有 CD4+CD8- T 细胞和 CD4-CD8+ T 细胞才能分化成熟。设想将异体同种抗原细胞注入受体的胸腺中, 使胸腺的微环境发生改变, 使胸腺基质中存在

DC 高表达的 MHC-I、II 类抗原形成复合物。经过阳性选择的胸腺细胞如能与此复合物高亲和力结合, 即视为自身抗原, 而产生免疫耐受。移植前用抗淋巴细胞血清 (ALS) 或抗 T 细胞免疫球蛋白清除外周血中的成熟 T 细胞, 然后进行移植可以诱导免疫耐受。Yamamoto 等^[1]报道将两种 MHC 完全不匹配的单倍体同免疫抑制剂 (他克莫司) 共同注入 11 只小型猪, I 组在移植前 21 d 切除胸腺 (n=5), 其中有两只小型猪术前胸腺内注射胸腺细胞; II 组在移植当天切除胸腺 (n=3); II 组保留胸腺 (n=3)。结果显示接受胸腺内注射胸腺细胞者表现出低反应性和移植体存活率的延长。Takayashiki 等^[2]报道 DA 大鼠胸腺内注射 2.5×10^7 Lewis 大鼠的脾细胞, 并向腹腔内注入 1 ml ALS 21 d 后 Lewis 大鼠的心脏移植到 DA 大鼠, 结果显示没有任何处理的 DA 大鼠 (n=7) 平均存活时间 (7.4 ± 1.7) d 而 66.7% 术前胸腺内注射 + ALS 处理 (n=24) 的大鼠平均存活时间延长。

2 供者特异性输血

移植术前进行供者特异性输血 (donor specific transfusion DST) 能延长抑制物的存活。机制可能为^[3]: (1) MHC 类抗原封闭抗体的产生; (2) 抗独特型抗体阻断 T 细胞对移植体抗原的识别; (3) 微嵌合体

导的移植排斥反应模型中,诱导免疫耐受的机制是由共刺激分子和 DSI介导。实验结果显示术前接受 DSI和经阻断共刺激信号处理的移植物存活率显著提高。Hoerhel等^[5]报道用小型猪作为心脏移植模型,术前第7天和第14天输入含有外周血单核细胞的 DST术后给予12 d为一个疗程的环孢霉素 A(CySA) 13 mg/(kg·d),结果显示 DSI和 CySA处理的小型猪存活>200 d而单独 DSI处理为52 d CySA处理为59 d。实验结果首次用大动物证实 DSI在心脏移植中诱导免疫耐受。

3 主要组织相容性复合物与免疫耐受

MHC分子是诱导移植排斥反应的重要抗原。最近 Kaczmarek等^[6]提出人类白细胞抗原(HLA)配型对心脏移植术后患者的长期影响,通过对240例心脏移植患者(包括移植失败的患者)的长期观察和随访发现:HLA-DR完全匹配者5年生存率90%,HLA-DR 1个不匹配者5年生存率79%,HLA-DR 2个不匹配者5年生存率68.1%;HLA-DR完全匹配者5年后90%没有血管病变,HLA-DR 1个不匹配者5年后61%没有血管病变,HLA-DR 2个不匹配者5年后54%没有血管病变。Nobor等^[7]实验首次用大动物(小型猪)进行了MHC完全不匹配的移植心脏长期免疫耐受研究。在其研究中,一组接受单独心脏移植,一组接受心脏移植和血管化的胸腺片,一组接受心脏移植和供体胸腺细胞注射,都接受12~28 d他克莫司。结果显示接受血管化胸腺片和心脏移植者存活率要比单独接受心脏移植者显著提高。Johnston等^[8]报道将心脏和胸腺异位植入MHC配型相同的且有完整的动脉系统和静脉系统小型猪,受者接受12 d CySA静滴,心电图、血压监测并定期取活检。结果显示移入后心脏和胸腺保持正常的功能,超过200 d没有发生排斥反应。最近, Luque等^[9]通过研究可溶性HLA-G水平与急性排斥反应的关系和免疫抑制疗法对可溶性HLA-G水平的影响。一组患者显示心脏移植后第一个月可溶性HLA-G水平增长($P<0.001$),一组患者显示心脏移植后第一个月可溶性HLA-G水平降低(0~30 ng/ml)。第二组表现为排斥反应的经常发生。第一组给与免疫抑制剂2 h后可溶性HLA-G水平显著提高。结果表明可溶性HLA-G水平参与诱导免疫耐受。

4 阻断协同刺激信号

受体对同种异体移植物的排斥反应是由T细胞活化引起。T细胞激活需要两个信号,第一个信号是受体T淋巴细胞表面的T细胞抗原受体(TCR)-CD3

号,由T细胞上的共刺激分子与APC表面的配体结合:(1) B7(CD80/CD86)→CD28 (2) CD40→CD40L (3) CD2→CD58 (4) LFA-4→CD54(细胞间黏附分子-1); (5) ICOS→ICOSL。若缺乏共刺激信号,则T细胞被诱导凋亡或无能。阻断共刺激信号,那么T细胞增殖及排斥反应的发生将得到有效遏制,从而诱导免疫耐受。细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4免疫球蛋白(cytotoxic T lymphocyte antigen 4-immunoglobulin, CTLA-4)是近年来出现的一种合成蛋白。细胞毒性T淋巴细胞相关抗原4(CTLA4)是T细胞活化过程中的重要分子,与CD28分子高度同源,但与B7的亲合力比CD28分子高20倍。CTLA4与B7结合后,抑制T细胞过度增殖。L等^[10]报道CTLA4-Ig联合骨髓移植(BMT)构建的嵌合体,使受体对心脏移植产生免疫耐受。实验选取ACI大鼠作为供者,Wistar大鼠作为受者,受者在术后当天、第2天、第4天、第6天、第8天接受CTLA4-Ig 2 mg/(kg·d)和在术后当天至第9天接受他克莫司1 mg/(kg·d),第10天接受DSI(10 mg),第10天接受紫外线照射和供者骨髓移植,6周以后接受异位心脏移植。结果显示嵌合体受者($n=6$)长期不发生排斥反应(>360 d)而对于第三方的供心($n=5$)很快发生排斥反应(<9 d)。在受体产生免疫耐受的移植淋巴细胞在供体混合淋巴细胞反应(MLR)中表现出低反应性,组织学显示没有血管病变。CTLA4是一种负向调节T细胞的分子,但其诱导免疫耐受的机制尚不清楚。Chandraker等^[11]报道通过对抗鼠CTLA-4抗体性质和效应的认识解释CTLA4在诱导移植免疫耐受中的作用。结果显示抗鼠CTLA-4抗体黏附但不阻止B7和CTLA4的结合,也没有造成酪氨酸激酶磷酸化,说明不是CTLA4抗体启动信号。抗鼠CTLA-4抗体处理过的小鼠在移植后33 d以前任何时候给予抗CD28抗体和免疫抑制剂,不会发生排斥反应。然而,在移植后45 d会发生严重的急性排斥反应。实验表明,竞争性结合B7可能是诱导免疫耐受的机制。ICOS-ICOSL作为CD28-B7家族的成员在T细胞活化过程中起着重要作用。最近,Guillonneau等^[12]提出慢性排斥反应不依赖CD40-CD40L而依赖ICOS-ICOSL。实验方法为一组接受抗ICOS单克隆抗体处理,一组接受CD40抗原处理,一组接受两种处理。结果显示接受抗ICOS单克隆抗体处理者排斥反应损伤轻,接受CD40抗原处理者排斥反应较重,接受两种处理的排斥反应较轻。

5 调节性T细胞与免疫耐受

调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)细胞作为

细胞的功能,是参与维持外周耐受的重要细胞。最近, Nomura等^[13]通过对经放射 DA大鼠进行心脏移植,研究 CD4+CD25+和 CD4+CD25-T细胞比例和排斥反应的影响。结果证实提高 CD4+CD25+和 CD4+CD25-T细胞比例诱导免疫耐受。Treg细胞诱导免疫耐受的机制如下:

5.1 抑制效应性 T细胞

可能通过包括分泌抑制性细胞因子:转化生长因子 β (TGF β),白介素 (IL)-10和细胞间接触两种方式对效应性 T细胞起作用。CD4+CD25+Treg是 Treg的重要类型之一,是近年来研究的热点。FoxP3 (fork head box P3)是 CD4+CD25+Treg的特异性标志。Zheng等^[14]用实验证明 CD4+CD25+Treg能够使 T细胞对体内抗原无反应而诱导免疫耐受,CD4+CD25+Treg和 IL-2、TGF β 表达转录因子 FoxP3。提出将 TGF β 、CD4+CD25+Treg细胞转移至移植心脏表面,延长生存率。实验将 CD4+和 CD8+T细胞以及供体细胞每2周注入小鼠体内,观察到增加的脾 CD4+CD25+Treg细胞源于供者,这些细胞使得受者对供者抗原保持无反应性。Koksoy等^[15]证实大鼠心脏移植模型中,免疫耐受由 CD4+CD25+Treg主导和高水平的 IL-10介导。实验选取用第二方受者的脾脏、淋巴结、外周血淋巴细胞,用抗体对抗流式细胞仪标记的各种 T细胞。体外的 MLR和体内继承性转移实验观察 CD4+CD25+Treg的变化。ELISA检测 MLR培养液上清液中和受者移植血清中细胞因子的含量。结果显示受者脾脏和淋巴结中含有大量的 CD4+CD25+Treg和大量的 IL-10。第二方受者的 CD4+CD25+Treg在体外抑制供者的增生性反应,与大量的 IL-10产生有关。

5.2 阻断 CD4+CD25-T细胞 IL-2分泌

IL-2作为 T淋巴细胞生长和增殖的重要因子,故推测阻断 IL-2分泌应该是其介导效应性 T细胞低增殖和低反应性的重要机制之一。Jiang等^[16]报道 CD4+CD25+Treg在体内经 HLA-A2诱导以后,表现出:(1)低反应性;(2)保持 CD4+CD25-T细胞的免疫抑制作用;(3)阻止 CD4+CD25-T细胞的 IL-2的分泌;(4)抑制 CD4+T对病原体的清除。

6 结束语

免疫耐受的研究对于器官移植能否取得突破性进展具有决定性的作用。虽然上述诱导免疫耐受的方法

大多只在小动物的实验中获得成功,距离临床应用还有很大的距离,甚至有些机制和原理还有待于进一步研究,但这些研究的成果具有深远的意义。

[参考文献]

- [1] Yamamoto S, Teranishi K, Kamano C, et al. Role of the thymus in transplantation tolerance in miniature swine V. Deficiency of the graft to thymus pathway of tolerance induction in recipients of cardiac transplants J. Transplantation 2006; 81: 607-613.
- [2] Takayashiki T, Asakura H, Ku G, et al. Infectious tolerance develops after intra-thymic allogeneic-induced acceptance of rat heart allografts can be adoptively transferred J. Surgery 2005; 138: 254-260.
- [3] Kishimoto K, Yuan X, Auchincloss H Jr, et al. Mechanism of action of donor specific transfusion in inducing tolerance: role of donor MHC molecules, donor costimulatory molecules, and indirect antigen presentation J. J Am Soc Nephrol 2004; 15: 2423-2428.
- [4] Sandner SE, Clarkson MR, Salama AD, et al. Mechanisms of tolerance induced by donor specific transfusion and COS-B7h blockade in a model of CD4+ T-cell mediated allograft rejection J. Am J Transplant 2005; 5: 31-39.
- [5] Hoeftel R, Johnston DR, Shoji T, et al. Combination treatment with donor specific transfusions and cyclosporine A induces long-term survival of cardiac allografts in miniature swine J. Transplantation 2005; 80: 1275-1282.
- [6] Kaczmarek J, Deutsch MA, Rother ME, et al. HLA-DR matching improves survival after heart transplantation: is it time to change allocation policies J? J Heart Lung Transplant 2006; 25: 1057-1062.
- [7] Nohori S, Samuelson Jones E, Shinjzu A, et al. Long-term acceptance of fully allogeneic cardiac grafts by corransplantation of vascularized thymus in miniature swine J. Transplantation 2006; 81: 26-35.
- [8] Johnston DR, Munipappan A, Hoeftel R, et al. Heart and en bloc thymus transplantation in miniature swine J. J Thorac Cardiovasc Surg 2005; 130: 554-559.
- [9] Luque J, Torres MI, Aumentado M, et al. Soluble HLA-G in heart transplantation: their relationship to rejection episodes and immunosuppressive therapy J. Hum Immunol 2006; 67: 257-263.
- [10] Li S, Thanikachalam M, Thanikachalam M, et al. CTLA4-Ig based conditioning regimen to induce tolerance to cardiac allografts J. J Surg Res 2006; 136: 238-246.
- [11] Chandraker A, Huuman V, Hallett K, et al. CTLA4 is important in maintaining long-term survival of cardiac allografts J. Transplantation 2005; 79: 897-903.
- [12] Guillemeau C, Aubry V, Renaudin K, et al. Inhibition of chronic rejection and development of tolerogenic T cells after COS-COSL and CD40-CD40L costimulation blockade J. Transplantation 2005; 80: 255-263.
- [13] Nomura M, Plath KM, Vemuri N, et al. The cellular basis of cardiac allograft rejection: K Ratio of naive CD4+CD25+ T cells/CD4+CD25-T cells determines rejection or tolerance J. Transpl Immunol 2006; 15: 311-338.
- [14] Zheng SG, Meng L, Wang H, et al. Transfer of regulatory T cells generated ex vivo modifies graft rejection through induction of tolerogenic CD4+CD25+ cells in the recipient J. Int Immunol 2006; 18: 279-289.
- [15] Koksoy S, Elpek KG, Yolcu ES, et al. Tolerance to rat heart grafts induced by intrathymic immunomodulation is mediated by indirect recognition primed CD4+CD25+ Treg cells J. Transplantation 2005; 79: 1492-1497.
- [16] Jiang S, Canana N, Lombardi G, et al. Induction of allo peptide specific human CD4+CD25+ regulatory T cells ex vivo J. Blood 2003; 102: 2180-2186.

收稿日期: 2007-08-20 修回日期: 2007-11-28

(本文编辑: 郭 宪)