

心脏移植免疫排斥诊断方法的研究进展

李天发¹, 关振中¹, 关宇光²

(1. 哈尔滨医科大学附属第二医院 心内科, 黑龙江 哈尔滨 150086; 2 黑龙江省邮电医院 内科, 黑龙江 哈尔滨 150001)

[关键词] 心脏移植; 免疫排斥反应; 排异诊断

[中图分类号] R654.2 [文献标识码] A [文章编号] 1000-1905(2001)02-0152-03

经过多年基础研究和临床实验, 同种原位心脏移植已成为一种应用于临床治疗终末期心脏病的有效方法。目前, 供心保存、外科手术技术、术后感染已不再是阻碍心脏移植成功的最主要因素。免疫排斥反应, 尤其是急性免疫排斥反应对心脏移植成败以及对心脏移植病人的生存期、生存质量的影响显得越来越突出。因此应用何种检查手段及时对心脏移植排斥反应做出诊断就显得尤为重要。传统诊断心脏移植排斥反应的方法为心内膜心肌活检(EMB)。EMB 特异性较高, 为诊断心脏移植排斥反应的金标准, 但 EMB 也有其固有缺点, 比如: EMB 为介入法, 开展 EMB 需要一定的设备及技术条件, 不能进行早期诊断, 诊断价格贵。所以, 许多学者致力于心脏移植排斥反应诊断方法的研究, 以期找到敏感、特异的非介入诊断方法。现存研究成果证实心脏移植急性排斥反应是典型的细胞免疫反应。心肌组织病理学检查发现心肌间质存在大量单核细胞及淋巴细胞浸润。许多研究者从心肌组织淋巴细胞浸润、外周血淋巴细胞激活、心肌细胞电、机械功能受损, 参与免疫调节的细胞因子变化的角度出发, 寻找心脏移植急性排斥反应诊断方法。本文对其进行综述。

1 心肌组织淋巴细胞浸润、外周血淋巴细胞激活与心脏移植免疫排斥

Howard 等^[1]应用¹¹¹In 标记狗外周血淋巴细胞。标记的淋巴细胞随血液循环到达心脏透过心肌毛细血管壁到达心肌间质。将 γ 闪烁计数器置于心脏部位, 检测狗原位心脏移植后心肌浸润细胞的放射性, 与心内膜心肌活检组织学检查、心脏机械活动、电活动对比研究。结果发现该诊断方法检测狗心脏移植排斥反应具有敏感、非介入、放射小的特点, 具有应用于临床早期诊断心脏移植排斥反应的可能性。

Patricia 等^[2]对心脏移植病人外周血激活淋巴细胞绝对数进行了研究, 试图用其来诊断排斥反应。他们对 49 例原位心脏移植病人进行了为期 3 年研究。共计进行心内膜心肌活检 347 次。47 例活检标本组织学检查判定为急性心脏移植排斥反应。同时用显微镜测定病人外周血淋巴细胞直径。如果直径大于 10μ , 判定为外周血淋巴细胞激活。如果激活淋巴细胞总数大于 30 个/ mm^2 , 用单克隆抗体区分淋巴

细胞种类。结果发现 47 次心内膜心肌活检确定为发生急性排斥反应的病例, 33 例外周血淋巴细胞检查判定为淋巴细胞激活; 另外有 51 例判定为淋巴细胞激活的病例, 心内膜心肌活检显示无急性排斥反应发生。经统计学处理, 该实验结果认为, 以外周血激活淋巴细胞绝对数预测心脏移植排斥反应无统计学意义。

Reader 等^[3]用 LDA(Limiting Dilution Analysis)方法测定 12 例人类心脏移植前后不同时间点受体外周血中供体激活 T 淋巴细胞占单核细胞百分比与心内膜心肌活检组织学检查对比研究。结果发现术前供体反应性 T 淋巴细胞百分比不能推测心脏移植术后排斥反应的发生及排斥反应的程度。然而, 发生急性排斥反应的病人外周血供体反应性 T 淋巴细胞的百分比与不发生急性排斥反应者相比, 有显著增高, 具有统计学意义。该研究结果提示可以用该项指标检测心脏移植急性排斥反应的发生。

随着免疫学的进展, 有研究者应用单克隆抗体对大鼠及人心脏移植后外周血淋巴细胞亚群变化与心脏移植急性排斥反应相关性进行了研究, 以期能找到诊断心脏移植急性排斥反应的非介入指标。Frank 等^[4]应用流式细胞仪分析大鼠异位心脏移植后外周血淋巴细胞免疫表型的连续变化, 结果在排斥反应组和对照组任何表型的淋巴细胞亚群, 无论百分比或绝对数都无统计学意义。在人类心脏移植后免疫排斥反应中 $\text{CD}_4^+/\text{CD}_8^+$ 比值对急性排斥反应的诊断价值尚不肯定^[5]。有研究认为通过对辅助性 T 淋巴细胞(T_4^+), 抑制性 T 淋巴细胞(T_8^+), 全血总淋巴细胞(T_3^+)表型分析, 检查其相对数可以诊断急性排斥反应或感染。病毒感染时 $\text{T}_4^+/\text{T}_8^+$ 比值 < 1 ; 细菌感染时 B 细胞数目增多, 且可见幼稚多形核白细胞; 出现排斥反应时 $\text{T}_4^+/\text{T}_8^+ > 1$ 。这种检查敏感性较高为 95%, 特异性为 60%。

2 心肌机械活动及电活动变化与心脏移植免疫排斥反应

排斥反应损伤心肌后必然对心肌细胞机械活动及电活动产生相应的影响, 从这一角度出发 Valentin 等^[6]利用“超声一心音”技术测定心脏等容舒张时间作为判定排斥反应诊断指标。从主动脉关闭(A_2 心音图记录)到二尖瓣开放(M 型超声记录)的时间即心脏等容舒张时间(isovolumetric relaxation time, IVRT), 不发生排斥反应病人 IVRT 为 $(78 \pm 12)\text{ms}$, 发生排斥反应病人 IVRT 为 $(105 \pm 12)\text{ms}$ 。

不能对急性心脏排斥反应做出早期诊断。

Voilio 等^[7]应用 B 型超声(探头频率 7.5MHz)对 5 例同基因大鼠腹腔异位心脏移植后 2 个月心脏进行检查,测定移植心脏收缩期直径、舒张期直径、心脏缩短率、左心室壁厚度、心脏充盈度与腹部触诊及病理检查对比研究。结论认为超声心动图检测大鼠腹腔异位心脏移植排斥反应不是好方法。Stempfle 等^[8]应用 M 型及 B 型超声心动图(探头频率 2.5 MHz)对 70 例心脏移植病人(女 10 例,男 60 例;平均年龄 46.2 岁±10.1 岁)进行为期 5 年追踪观察。病人接受常规免疫治疗。依美国超声协会标准,测定左心室直径、左心室缩短率、左心室壁厚度、心包渗液量等指标与心肌活检比较,结果发现以上指标对诊断排斥反应有统计学意义。

免疫抑制剂环孢素应用于临床以后,传统体表心电图失去了对急性心脏移植排斥反应的诊断作用。Auer 等^[9]应用心腔内心电描记技术对心腔内心电图的 QRS 波群振幅、R 波振幅进行精确分析,判定心腔内心电图对排斥反应的诊断作用。共分析 346 份心电图,241 份与心肌活检结果进行比较。当排斥反应≥2 级时,以 QRS 波群振幅、R 波振幅减少 8% 为标准,诊断急性排斥反应。在 92% 诊断域时,敏感性 87%,特异性 79%。

肌钙蛋白为心肌细胞标志性蛋白,当心肌细胞损伤时释放入血,检测外周血肌钙蛋白含量可以判定心肌细胞损伤程度。Walpoth 等^[10]研究了肌钙蛋白 T(TNT)对大鼠心脏移植排斥的诊断作用。该研究应用腹腔异位心脏移植大鼠 44 只和健康对照大鼠 10 只。44 只腹腔异位心脏移植大鼠中同基因移植 6 例(不发生排斥反应),异基因移植 38 例(应该发生急性排斥反应)。38 例异基因移植动物中 5 只不应用抗排斥反应药物,33 只应用抗排斥反应药物。术后第 7 天处死动物,检测外周血 CK、CK-MB、TNT 活性与心肌排斥反应程度比较。经回归分析 CK、CK-MB 与排斥反应无相关性。TNT 水平随排斥反应级别升高,两者具有相关性,相关系数 0.66。但是研究者认为检测外周血 TNT 水平作为一种非介入诊断急性排斥反应手段应用于临床尚需进一步研究。

3 淋巴细胞表面抗原及免疫排斥反应相关细胞因子变化与心脏移植免疫排斥反应

Autran 等^[11]应用流式细胞仪检测 50 例心脏移植患者外周血 11 种淋巴细胞表面抗原 CD₄⁺、CD₈⁺、CD₂₅⁺、CD₇₁⁺、CD₄₅⁺、CD₅₇⁺、CD₃⁺、CD₅₆⁺、LHA-DR、CD₁₉⁺、CD₈⁺-FITC-S6FF-PE,以确定其表达与排斥反应的关系。结果发现,成熟淋巴细胞(CD₃⁺)增加,辅助 T 细胞和 CD₈⁺、CD₅₇⁺免疫抑制细胞减少能预示心脏移植后首次免疫排斥反应发生。

以上研究与 EMB 相比,由于敏感性及特异性较差,一定程度上限制了其在临床上的应用。最近有学者应用分子生物学手段探讨心脏移植排斥的诊断方法。Claudia 等^[12]应用 RT-PCR 法检测心脏移植植物中 IL-1β、IL-1α、IL-2、IL-6、IL-8、TNF-β、IFN-γ 等细胞因子的变化,发现这些细胞因子随排斥

细胞因子的变化与心脏移植排斥反应的相关性,发现细胞因子表达在排斥反应发生前及早期排斥反应治疗期间不增加,并且外周血 IL-1β、IL-4、IL-6、IL-10、TNF-γ 等细胞因子减少。

细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)杀伤靶细胞时释放穿孔素和颗粒酶,两者能诱导心肌细胞凋亡。根据这一机制,许多学者应用 PCR、原位杂交等方法研究这两类蛋白基因表达与排斥反应进程的关系,发现移植植物中这两类蛋白基因表达在排斥反应发生时增加,且与排斥反应过程相平衡。可以预示排斥反应的发生及严重程度,能用来指导临床治疗。排除病毒感染,检测外周血中这两类蛋白基因的表达可以作为心脏移植急性排斥反应的非介入性诊断指标,供临床治疗时参考^[14~17]。

4 其它方法

因为排斥反应发生时存在淋巴细胞大量增殖及死亡,外周血中其相关代谢产物会发生相应变化。有研究者应用高效液相色谱仪测定血和尿内尿胺含量变化作为急性排斥反应的诊断标准。尚有测定血清催乳素含量变化等方法。

总之,目前临床诊断心脏移植排斥反应的唯一可靠方法仍是心内膜下心肌活检,组织学检查。尚缺乏能代替 EMB 的敏感性、特异性较高的非介入诊断手段。随着器官移植的广泛开展,免疫排斥反应诊断手段的研究将成为今后临床研究的一个热点。

[参考文献]

- [1] Howard J, Smeven B, Jefrey E, *et al.* Noninvasive detection of rejection of transplanted hearts with indium-111-labeled lymphocytes[J]. *Circulation*, 1987, 75: 868-876.
- [2] Patricia K, Donald W, Anna Moriarty, *et al.* Immunological monitoring of the cardiac transplant patient[J]. *Chest*, 1988, 94: 834-836.
- [3] Reader JA, Burke MM, Counihan P, *et al.* Noninvasive monitoring of human cardiac allograft rejection[J]. *Transplantation*, 1990, 50: 29-30.
- [4] Frank J, Tonal D. Serial monitoring of peripheral blood lymphocyte subsets in cardiac allograft rejection in the rat[J]. *Transplantation*, 1989, 47: 1079-1081.
- [5] Gillian M, Griffiths, Christoph Muller. Expression of perforin and granzymes in vivo: potential diagnostic markers for activated cytotoxic cells[J]. *Immunol Today*, 1991, 12: 415.
- [6] Valentine HA, Fowler MB, Hunt SA, *et al.* Changes in Doppler echocardiographic indexes of left ventricular function as potential markers of acute cardiac rejection[J]. *Circulation*, 1987, 76(suppl. 5): v-86.
- [7] Voiglio E, Desseigne P, Toumiaire F, *et al.* Echocardiography is not good way of monitoring cardiac grafts after abdominal heterotopic transplantation in the rat[J]. *Transplant Proc*, 1995, 27(3): 1690.
- [8] Stempfle HU, Strom C, Spes C, *et al.* Cardiac changes during acute allograft rejection: Evaluation by serial echocardiographic measurements over a 5-year follow-up period[J]. *Transplant Proc*, 1995, 27(3): 1981-1982.
- [9] Auer Th, Schreier G, Hutten H, *et al.* After heart transplantation intracardiac electrogram for monitoring of allograft rejection[J].

- [10] Walpoth BH, Tschopp A, Peheim E, *et al.* Assessment of troponin-t for detection of cardiac rejection in a rat[J]. *Transplant Proc*, 1995, 27(3): 2084-2087.
- [11] Autran B, Jouveshomme S, Escolano S, *e al.* An immunological score for prediction of acute rejection of heart transplantation[J]. *Transplant Proc*, 1995, 27(2): 1691.
- [12] Claudia J, Ronald P, Cesar J, *et al.* Alloantigen-dependent endothelial phenotype and lymphokine mRNA expression in rejecting murine cardiac allografts[J]. *J Transplantation*, 1993, 55: 919-923.
- [13] Anand S, James F, David C, *et al.* Semi quantitative measurement of cytokine messenger RNA in endomyocardium and peripheral blood mononuclear cells from human heart transplant recipients[J]. *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 1996, 15: 207-221.
- [14] Clement MV, Haddad P, Soulie A, *et al.* Perforin and granzyme B as markers for acute rejection in heart transplantation[J]. *Int Immunol*, 1991, 3: 1175.
- [15] Gillian M, Reiko Namikawa, Christoph Mueller, *et al.* Granzyme A and perforin as marker for rejection in cardiac transplantation[J]. *Eur J Immunol*, 1991, 21: 678.
- [16] Takami T, Tetsuo U, Hiroaki N, *et al.* Accelerated rejection of Fas ligand-expressing heart grafts[J]. *J Immunol*, 1999, 162: 518-522.
- [17] McDiamid SV, Farmer DG, Kuniyoshi JS, *et al.* Perforin and granzyme B: cytolytic proteins upregulated during rejection of rat small intestine allografts[J]. *Transplantation*, 1995, 59: 762-766.

影响突发性耳聋听力恢复因素的研究

孙敬霞¹, 赵红艳²

(1. 哈尔滨医科大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150001; 2. 伊春市桃山区林业医院 五官科, 黑龙江 伊春 153000)

突发性耳聋就是突然发生的听力障碍, 是指短时间内产生的感音神经性耳聋, 时间很短, 一般在几秒钟之内, 最长也不会超过 2 天, 突发性耳聋除有听力障碍以外还会伴有耳鸣。突发性耳聋的发病原因至今还不是很清楚, 但据观察病人在发病前都曾有感冒、发热、紧张、劳累等现象。我们从 1998 年以来在我院就诊的患者中选出突发性耳聋患者 36 例, 以听力改善率作为主要指标, 对本组病例治疗前后听力恢复的情况进行比较, 旨在探讨影响预后的主要因素。

临床资料 36 例研究对象中, 男 26 例, 女 10 例。左耳 16 例, 右耳 20 例。伴耳鸣者 18 例, 伴眩晕者 16 例, 2 例无伴随症状。年龄 6~68 岁, 平均 44.5 岁。所有病例均经纯音测听、声阻抗测听及 ABR 检查证实为听力下降, 且无中耳疾患和窝后病变, 并行耳蜗电图检查确诊为突发性耳聋, 病程均在 10 天以内。

疗效判断标准 痊愈: 250、500、1000、2000、4000Hz 5 个频率的听阈平均值恢复至 25dBHL 以内或健耳同一水平。显效: 上述 5 个频率听阈平均值提高 30dBHL 以上。有效: 5 个频率听阈平均值变化

在 ± 10 dBHL 之间。

结果与讨论 36 例中痊愈者 13 例(占 36.11%), 显效者 5 例(占 13.89%), 有效者 9 例(占 25.00%), 无效者 9 例(占 25.00%); 总有效率 75.00%。初诊听阈均值 < 60 dB 者 15 例, 其中痊愈 7 例, 显效 4 例, 有效 3 例, 痊愈和显效者占 73.33%; 初诊听阈均值 > 60 dB 者 21 例, 其中痊愈 6 例, 显效 1 例, 有效 6 例, 痊愈和显效者占 33.33%。由此说明初诊时听力障碍严重, 改善率低; 初诊时听力障碍轻者, 改善率高。本组伴眩晕者 16 例, 其中痊愈 3 例, 显效 2 例, 有显著改善者占 31.25%; 而无眩晕者中, 显著改善者占 72.22%, 提示伴眩晕症状者预后不良。另外, 发病到就诊时间越短者改善率越高, 突发性耳聋有 50% 的人可以自愈, 另 50% 则需要通过治疗来恢复, 早期治疗的治愈率比较高, 治疗不要晚于 1 周进行, 如果晚于 2 个月再进行治疗的话, 恢复的可能性就会很小, 这一结果与国内其他报道相一致。有文献指出, 一般病人年龄偏大预后较差, 但本组 6~45 岁年龄组与 46~68 岁年龄组的改善率无显著差别($P > 0.05$), 可能与病例少有关。