

心脏移植术后急性排斥反应 1 例临床监测经验总结

蒋树林 田海 谢宝栋 刘开宇 陈巍

【摘要】 目的 总结心脏移植术后急性排斥反应的临床监测体会。方法 回顾性分析 1 例心脏移植术后死于急性排斥反应患者的临床资料, 分析术后排斥反应监测情况。结果 患者术后半年随访行心内膜心肌活组织检查(活检), 结果为 II 级急性排斥反应, 经治疗好转出院。术后 3 年因上呼吸道感染出现气促再次入院, 心内膜心肌活检结果为 0~I A 级改变, 病情恶化, 死亡。尸检结果提示 IV 级急性排斥反应。结论 心内膜心肌活检是急性排斥反应的重要监测手段, 但仍有缺陷。当活检结果与临床表现及实验室检查结果有矛盾时, 应积极采用其他监测方法, 综合分析所有监测指标来作出判断, 以降低漏诊率、提高患者生存率。

【关键词】 心脏移植; 急性排斥反应; 心内膜心肌活组织检查; 免疫监测

Experience of acute rejection monitoring after heart transplantation: a case report JIANG Shu-lin, TIAN Hai, XIE Bao-dong, LIU Kai-yu, CHEN Wei. Department of Cardiovascular Surgery, Second Affiliated Hospital, Harbin Medical University, Harbin 150086, China
Corresponding author: TIAN Hai. E-mail: doctor_tianhai@yahoo.com.cn

【Abstract】 Objective To summarize the experience of acute rejection clinical monitoring after heart transplantation. Methods Clinical data of a patient died of acute rejection after heart transplantation were retrospectively analyzed. Results The patient developed grade II acute rejection at sixth month after heart transplantation. The acute rejection was confirmed by endomyocardial biopsy and the patient recovered after treatment. Three years after transplantation, the patient was re-hospitalized for anhelation after upper respiratory tract infection. The endomyocardial biopsy demonstrated grade 0~I A change. His health was deteriorating rapidly and he died finally. The autopsy results indicated the existence of grade IV acute rejection. Conclusions Endomyocardial biopsy is an important method in monitoring cardiac acute rejection, but with some effect. When the biopsy result is inconsistent with clinical manifestation and laboratory testing, other monitoring methods should be effectively taken to decrease the rate of missed diagnosis and to increase the survival rate of patients.

【Key words】 Heart transplantation; Acute rejection; Endomyocardial biopsy
Immunologic surveillance

心脏移植是目前公认治疗终末期心脏病唯一有效的手段, 但是, 移植后免疫排斥反应严重影响了心脏移植患者的长期存活率。自 1967 年人类首例同种心脏移植成功以来, 随着移植技术提高、新的抗排斥反应药物的应用和其他相关学科的发展, 移植疗效有了很大改善^[1]。与其它器官移植一样, 同种异体排斥反应是心脏移植面临的主要障碍之一。移植术后进行免疫抑制治疗是临床常用的控制

移植排斥反应的有效手段。在心脏移植术后对受者进行免疫监测, 一方面可以尽早发现排斥反应, 以便及时治疗以减轻移植心的损伤, 同时也为免疫抑制剂的合理使用提供保证。目前, 心内膜心肌活组织检查(活检)作为诊断心脏移植术后急性排斥反应的金标准已得到广泛认可^[2]。但是, 我们在临床实践中发现心内膜心肌活检并不能完全反映出心肌急性排斥反应的实际情况, 有一定假阴性率,

现将临床研究结果报道如下。

资料与方法

一、一般资料

患者男性, 49岁。因扩张型心肌病、心力衰竭于 2003年 12月 10日在本院行同种异体心脏移植术。1995年患者在本院被诊断为扩张型心肌病, 后多次因心力衰竭、肺部感染入院。患者症状逐年加重, 夜间阵发性呼吸困难, 不能平卧, 咳白色泡沫痰, 于 2003年 11月 7日收入本院心内科。体格检查双肺散在湿啰音, 心律不齐, 心界扩大, 心音低钝。心脏多普勒超声示舒张末期左心室内径 87 mm, 室间隔厚度 9 mm, 舒张末期左心室后壁厚度 9 mm, 射血分数 0.32。二尖瓣少至中量返流, 左心室心尖部血栓形成。右心导管检查示肺毛细血管楔压、肺小动脉压、肺总动脉压、右心室压、右心房压均高于正常参考值。经予改善心功能、抗炎等对症治疗后转至心外科治疗。在全身麻醉下行双腔法原位心脏移植术, 术程 3.8 h, 气管插管 26.5 h, 术后引流 68 h共 600 ml液体。术后 20 d行右心导管检查示肺毛细血管楔压、肺小动脉压、肺总动脉压、右心室压、右心房压均较术前明显降低, 住院 164 d后出院。

二、术后处理

围手术期常规采用三联免疫抑制治疗方案: 环孢素 (CsA) + 硫唑嘌呤 + 肾上腺皮质激素 (激素)。

CsA的用法: 术后第 5日开始口服 CsA, 起始剂量为 10 mg/(kg·d), 以后逐渐减量。根据 CsA血药谷浓度水平及有否药物毒性反应来调整用量。

硫唑嘌呤的用法: 术后第 1日, 开始给予硫唑嘌呤 200 mg/d, 分 2次口服, 然后逐渐减量至 3 mg/(kg·d)。在术后第 1~3个月减量至 1.5~2 mg/(kg·d), 在术后第 4个月用量为 1.0~1.5 mg/(kg·d), 术后第 12个月为 0.3~1.6 mg/(kg·d)。以患者不出现骨髓抑制及肝脏毒性来判定硫唑嘌呤的最大耐受水平。

激素的用法: 在术后第 1日及第 2日分别给予甲泼尼龙 15 mg/(kg·d) 静脉滴注; 术后第 3日给予泼尼松 100 mg/d, 分 4次口服, 每隔 3 d减量 1次, 每次减 25 mg, 术后第 1个月减量至 25 mg,

3个月减至 0.10 mg/(kg·d)。3个月之后, 泼尼松用量减至最小维持量, 约 0.10 mg/(kg·d)。在术后第 12个月停用该药。

患者接受心脏移植术 1年后采用 CsA进行长期免疫抑制维持治疗, 维持量为 1~3 mg/(kg·d)。

口服钙拮抗药、他汀类药物、硝酸酯类药物、β受体阻滞剂等药物预防冠状动脉血管病变。

三、术后随访

患者每月复诊 1次, 评估心功能。每隔 3~4个月测定 1次 CsA血药谷浓度, CsA血药谷浓度维持在 150~200 ng/ml。定期检测外周血白细胞计数。定期行 X线胸部摄片、心电图、心脏多普勒超声和彩色多普勒超声 (彩超) 等检查监测排斥反应, 必要时行心内膜心肌活检。如果出现排斥反应则采用甲泼尼龙和地塞米松冲击治疗。

四、排斥反应的病理诊断标准

采用 Stanford标准对供心排斥反应进行组织学分级^[3]: (1) 0级, 无排斥。(2) I级, I A级指有个别淋巴细胞浸润; I B级指有散在少量的淋巴细胞浸润。(3) II级, 单灶性侵袭性淋巴细胞浸润或伴有灶性心肌细胞损害。(4) III级, III A级指多灶性侵袭性淋巴细胞浸润或伴有心肌细胞损害; III B级指弥漫性炎症伴有心肌坏死。(5) IV级, 弥漫性多类型细胞浸润伴有出血、水肿和坏死。

结 果

术后半年随访, 患者因胃胀在心内科住院治疗并行心内膜心肌活检, 结果示 II级急性排斥反应。超声心动图示移植心的左心房扩大, 心包少许积液。给予激素冲击、营养心肌、改善心功能、补充电解质、扩张冠状动脉及调脂治疗, 好转出院。心脏移植术后第 3年, 患者因上呼吸道感染出现气促, 伴胸闷、咳嗽、咳痰、腹胀 10 d, 症状加重伴头晕、头胀、少尿 3 d再次到我院心内科住院治疗。体格检查双肺呼吸音粗, 右肺底少量湿啰音, 心率 110次/分, 心律整齐, 双下肢无水肿。心内膜心肌活检符合 0~I A级急性排斥反应改变。住院期间患者心率缓慢, 频发心律不齐。查外周血白细胞计数为 $12 \times 10^9/L \sim 15 \times 10^9/L$, T淋巴细胞绝对计数正常, C反应蛋白明显升高, 达正常上限的 11倍, 血清胆固醇和甘油三酯水平正常, 血糖水

右心房扩大, 右心室略大, 双心室室壁增厚, 左心室舒张期与收缩期功能降低, 主动脉瓣及二、三尖瓣轻度返流, 心尖部血栓形成, 无心包积液。当时诊断为心力衰竭, 给予营养心肌、改善心功能、抗炎对症及抗排斥反应等治疗, 但症状仍然继续加重。患者住院 3 个月时出现腹胀、恶心、呕吐, 尿量逐渐减少, 巩膜黄染, 下肢水肿等症状, 最终因呼吸、心脏骤停而临床死亡。

征得家属同意对患者进行尸检。尸检结果: (1) 左、右心腔扩张, 左心室壁心肌切面可见片状暗红色区域; 镜下心肌细胞大面积溶解性坏死, 坏死区可见较多纤维瘢痕灶, 部分区域残存的心肌细胞呈岛状分布、伴不同程度的变形, 坏死区和心肌间质内可见灶性和片状淋巴细胞浸润, 并有大量红细胞、纤维组织增生和新生的毛细血管。(2) 心肌间质疏松水肿、血管扩张充血, 小血管管壁增厚、坏死、出血明显、内膜或周围组织淋巴细胞浸润。(3) 心外膜增厚, 可见片状坏死伴纤维组织增生、新生的毛细血管和红细胞较多; 心内膜增厚, 可见少量淋巴细胞浸润; 心内膜表面可见由血小板、纤维素和炎症细胞等构成的血栓附着。(4) 冠状动脉管腔狭窄, 管壁呈同心性纤维性增厚, 以内膜为重, 部分管壁纤维素样坏死, 管壁周围可见大量淋巴细胞浸润, 并有大量红细胞。尸检报告移植心改变符合 IV 急性级排斥反应改变。

讨 论

心脏移植后排斥反应的监测主要有以下几方面: (1) 自觉症状表现为乏力、食欲不佳、情绪不好、心情烦躁等症状。(2) 心电图检查表现为电轴右偏、右心室肥大及右束支传导阻滞, QRS 低电压及室内传导阻滞。(3) 心脏彩超可见心包积液、心脏收缩无力、右心室扩大、三尖瓣返流及心功能不全。(4) X 线胸片表现为心包积液、胸腔积液、心脏扩大及肺间质水肿。(5) 血中 C₅A 浓度测定未达到治疗窗浓度。(6) 心内膜心肌活检, 心肌活检病理检查包括光镜检查和电镜检查。

目前心内膜心肌活检仍然是诊断心脏移植术后排斥反应的最重要手段, 但在临床实践中开始暴露出一定的缺陷。由于心内膜心肌活检主要是从右心室取材, 其结果只能反映取材部位的情况, 未能真实反映整个心脏的变化^[2]。本例患者移植心的病

就决定了通过心内膜心肌活检是基本不可能准确地反映出移植心的排斥反应。通过这例的教训, 我们认为: 即使心内膜心肌活检的结果未显示明确的排斥反应, 也应通过其他监测手段的结果共同判断是否存在排斥反应。此外, 心内膜心肌活检是有创性检查, 可导致心脏传导系统损伤并引发心律失常, 偶尔还可并发心脏穿孔。近年研究发现, 心内膜心肌活检可导致右心室内血栓形成, 进而造成肺栓塞, 增加肺动脉压力^[3]。Fiorell 等^[4]通过对 2000~2008 年接受心脏移植的 125 例患者进行观察, 发现减少心内膜心肌活检次数能明显减少移植术后三尖瓣返流的发生率。

目前, 在心脏移植术后免疫监测手段中被认为有可能替代心内膜心肌活检的方法有 3 大类: 成像法、检测外周血中特定的生物标记物和免疫活化基因^[5]。

通过成像法来监测是否出现排斥反应, 主要指通过超声心动图、磁共振成像 (MRI) 和心肌内电描记图来监测排斥反应。通过常规超声心动图的测量心脏形态和结构并不能监测排斥反应。有研究表明, 通过斑点示踪的二维超声心动图来测量左心室扭转的减少能够反映移植物的排斥反应^[6]。通过 106 例心脏移植患者的验证, 超声变形成像 (Ultrasonic deformation imaging) 能够敏感地发现由于排斥反应造成的心肌变化^[7]。MR 通过对心脏内特定的蛋白进行标记并成像来判断是否存在排斥反应^[8]。心肌内电描记图是通过在心肌内植入电极, 并以此为基础进行电描记图的绘制, 以其中 R 波的波幅变化作为主要观察指标, 通过这种方法能够监测急性排斥反应的发生^[9]。这 3 种办法都可以通过引进相关的设备应用于临床工作, 具有较高的实用价值。

通过检测外周血中特定的生物标记物可监测排斥反应。B 型尿钠肽反映心室壁压力, 主要由心室细胞产生, 其水平升高见于心力衰竭、高血压和肾功能损伤等。有研究表明, N 末端前 B 型尿钠肽比 B 型尿钠肽更能反映心脏排斥反应^[10]。近年, 髓过氧化物酶和羧基蛋白是广受关注的生物标记物, 被认为是检测心脏排斥反应的敏感指标^[11]。国际上目前公认的监测指标之一是活化的 T 淋巴细胞亚群。但本例患者生前曾检测过 T 淋巴细胞绝对计数, 该数值完全正常。在急慢性排斥过程中, 静止

细胞发挥免疫效应功能。最近有研究表明,循环中辅助性 T 淋巴细胞 1、辅助性 T 淋巴细胞 17 和 FoxP3⁺ T 淋巴细胞的动态变化能够反映急性排斥反应的情况^[12]。C 反应蛋白是一种敏感的急性时相蛋白,虽无特异性,但其含量上升提示炎症和组织损伤,也可作为心脏移植受者免疫或炎症反应活性增强的指标。在本例患者死前的检测中发现 C 反应蛋白明显升高,达到正常上限的 10 倍以上,而当时心内膜心肌活检并未提示有明显的排斥反应。因此,我们认为:在 C 反应蛋白结果和心内膜心肌活检结果有矛盾的情况下,应积极采用其他生物标记物来评估排斥反应的情况,并对活化 T 淋巴细胞亚群进行监测,综合分析所有监测指标才作出判断,以降低漏诊率。

通过检测免疫活化基因亦可监测排斥反应。免疫活化基因是近年来器官移植领域提出的一个新的概念。一般是指重要的细胞因子基因、T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞活化和产生效应时所表达的特征性基因及与免疫细胞生长调节和诱导凋亡有关的重要基因。在免疫细胞活化增殖和发挥效应的过程中,这些基因可同时或相继表达并介导重要的生理功能,可在一定程度上预示免疫反应的程度和转归。又由于基因表达的变化应先于蛋白的变化,所以基因监测可能更为敏感。有研究证明,从 336 例患者调查研究发现,供体的心肌凋亡抑制蛋白 apol1on 信使核糖核酸可以作为一种敏感和特异的急性排斥反应的预报因子^[13]。目前公认最有可能替代心内膜心肌活检的基因监测是基因表达谱 (gene expression profiling) 分析,采用聚合酶链反应 (PCR) 技术对外周血单核细胞 mRNA 进行检测,检测的基因包括 IL1R2、FLT3、ITG、MARCH8、WDR4、PF4、C6orf25、RHOJ、PDCD1、ITGA4、SEMA7A 等^[14-18]。有学者对 602 例心脏移植术后患者进行基因表达谱分析,结果表明这种分析方法能敏感地反映排斥反应的情况,并能明显地减少心内膜心肌活检的次数^[19]。这种监测方法因敏感度高、损伤小、易于开展而受到越来越多的关注,作为心脏移植术后排斥反应的监测手段极具应用前景。

综上所述,心内膜心肌活检是监测急性排斥反应的重要手段,但仍有缺陷。在心内膜心肌活检与临床表现及实验室检查结果有矛盾的情况下,应积极采用其他监测方法,综合分析所有监测指标来作

生存率。

参 考 文 献

- [1] 臧旺福, 田海. 对心脏移植几个问题的再认识 [J]. 器官移植, 2010 1 (4): 197-199.
- [2] Austin BA, Taylor DO. Surrogate markers of rejection [J]. Curr Opin Organ Transplant, 2010 15 (5): 645-649.
- [3] Veress G, Bruce CJ, Kutzke K, et al. Acute thrombus formation as a complication of right ventricular biopsy [J]. J Am Soc Echocardiogr, 2010 23 (10): 1039-1044.
- [4] Forelli AJ, Coelho GH, Oliveira JL Jr, et al. Endomyocardial biopsy as risk factor in the development of tricuspid insufficiency after heart transplantation [J]. Transplant Proc, 2009 41 (3): 935-937.
- [5] Frick M, Antretter H, Pachinger Q, et al. Biomarker for diagnosis of rejection after heart transplantation [J]. Herz (德文), 2010 35 (1): 11-16.
- [6] Sato T, Kato TS, Kamanura K, et al. Utility of left ventricular systolic torsion derived from 2-dimensional speckle tracking echocardiography in monitoring acute cellular rejection in heart transplant recipients [J]. J Heart Lung Transplant, 2011 30 (5): 536-543.
- [7] Marciniak A, Eroglu E, Marciniak M, et al. The potential clinical role of ultrasonic strain and strain rate imaging in diagnosing acute rejection after heart transplantation [J]. Eur J Echocardiogr, 2007 8 (3): 213-221.
- [8] Swirski FK, Willgruber M, Ueno T, et al. Myeloperoxidase-rich LY-6C⁺ myeloid cells infiltrate allografts and contribute to an imaging signature of organ rejection in mice [J]. J Clin Invest, 2010 120 (7): 2627-2634.
- [9] Jia YX, Meng X, Sun LB, et al. Using intramyocardial electrograms combined with other noninvasive methods for monitoring acute rejection following human heart transplantation [J]. Chin Med J, 2009 122 (2): 136-139.
- [10] Kittleson MM, Skojec DV, Witstein JS, et al. The change in B-type natriuretic peptide levels over time predicts significant rejection in cardiac transplant recipients [J]. J Heart Lung Transplant, 2009 28 (7): 704-709.
- [11] Koestenbauer S, Stiegler P, Stadlbauer V, et al. Myeloperoxidase and carbonyl proteins: promising markers for non-invasive monitoring of graft rejection after heart transplantation [J]. J Heart Lung Transplant, 2010 29

- antigen-presenting dendritic cells [J]. *Eur J Immunol* 2008 38 (4): 957-967.
- [26] Schurich A, Berg M, Stabenow D, et al. Dynamic regulation of CD8⁺ T cell tolerance induction by liver sinusoidal endothelial cells [J]. *J Immunol* 2010 184 (8): 4107-4114.
- [27] Knolle PA, Schmitt E, Jin S, et al. Induction of cytokine production in native CD4⁺ T cells by antigen-presenting murine liver sinusoidal endothelial cells but failure to induce differentiation toward Th1 cells [J]. *Gastroenterology* 1999 116 (6): 1428-1440.
- [28] Maher JJ. Interactions between hepatic stellate cells and the immune system [J]. *Semin Liver Dis* 2001 21 (3): 417-426.
- [29] Kobayashi S, Seki S, Kawada N, et al. Apoptosis of T cells in the hepatic fibrotic tissue of the rat: a possible inducing role of hepatic myofibroblast-like cells [J]. *Cell Tissue Res* 2003 311 (3): 353-364.
- [30] Lee JH, Yoon JH, Lee YJ, et al. Mesalamine-induced B7-H1 expression on hepatic stellate cells attenuates autoimmune liver injury [J]. *Hepatology* 2011 41 (1): 79-86.
- [31] Jiang G, Yang HR, Wang L, et al. Hepatic stellate cells preferentially expand allogeneic CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ regulatory T cells in an IL-2-dependent manner [J]. *Transplantation* 2008 86 (11): 1492-1502.
- [32] Chen CH, Shu KH, Su YH, et al. Cotransplantation of hepatic stellate cells attenuates the severity of graft versus host disease [J]. *Transplant Proc* 2010 42 (3): 971-975.

(收稿日期: 2011-03-22)

(本文编辑: 邬加佳)

(上接第 208 页)

- [12] Wang S, Li J, Xie A, et al. Dynamic changes in Th1, Th17 and FoxP3⁺ T cells in patients with acute cellular rejection after cardiac transplantation [J]. *Clin Transplant* 2011 25 (2): E177-E186.
- [13] Aharinejad S, Andrukhova O, Gneiner M, et al. Donor myocardial apolipoprotein mRNA is associated with cardiac allograft rejection [J]. *J Heart Lung Transplant* 2010 29 (7): 777-785.
- [14] Crespo-Leiro MG, Panjagari Martin MJ, Hermida Prieto M, et al. Gene expression profiling for monitoring graft rejection in heart transplant recipients [J]. *Transplant Proc* 2009 41 (6): 2240-2243.
- [15] Pham MX, Deng MC, Kfoury AG, et al. Molecular testing for long-term rejection surveillance in heart transplant recipients: design of the Invasive Monitoring Attenuation Through Gene Expression (MAGE) trial [J]. *J Heart Lung Transplant* 2007 26 (8): 808-814.
- [16] Bemstein D, Williams GE, Eisen H, et al. Gene expression profiling distinguishes a molecular signature for grade 1B mild acute cellular rejection in cardiac allograft recipients [J]. *J Heart Lung Transplant* 2007 26 (12): 1270-1280.
- [17] Dixon V, Macaulay C, Burch M, et al. Unsuspected rejection episodes on routine surveillance endomyocardial biopsy post heart transplant in paediatric patients [J]. *Pediatr Transplant* 2007 11 (3): 286-290.
- [18] Auerbach SR, Manhöt C, Reddy S, et al. Recipient genotype is a predictor of allograft cytokine expression and outcomes after pediatric cardiac transplantation [J]. *J Am Coll Cardiol* 2009 53 (20): 1909-1917.
- [19] Pham MX, Teuteberg JJ, Kfoury AG, et al. Gene expression profiling for rejection surveillance after cardiac transplantation [J]. *N Engl J Med* 2010 362 (20): 1890-1900.

(收稿日期: 2011-03-29)

(本文编辑: 邬加佳 朱佩玲)