

## 心脏移植与免疫

北京市心肺血管医疗研究中心—安贞医院心脏外科 吴滨综述 李平审校

自1967年Barnard第一例人类同种异体心脏移植成功至今已有二十年历史。通过临床实践证明,欲使心脏移植成功并使患者长期存活,除加强供心的保护、提高外科技术水平外,克服供、受者间的免疫排异反应也是关键的一环。本文就此并结合临床实际问题作一综述。

### 供、受体的免疫学选择及术前处理

同种异体移植物的排异反应是一种免疫遗传现象。与此有关的基因不是单独的一个,而是位于紧密连锁位点上一组基因。这些位点组成的遗传区域是为主要组织相容性复合物(Major Histocompatibility Complex,简称MHC)。人类的MHC主要包括人白细胞抗原(HLA)(Human Leucocyte Antigen)和ABO抗原系统。它们与人类同种异体移植排异反应的发生有着密切关系。

HLA遗传区在人类第6号染色体短臂上。根据遗传位点的不同,可将HLA分成三大类:第Ⅰ类(Class I),HLA—A,B,C,它们分布在所有有核细胞的细胞膜上;第Ⅱ类(Class II)HLA—D/DR区域编码的抗原,此类抗原主要分布在B细胞、巨噬细胞及激活的T细胞表面;第Ⅲ类(Class III)HLA属于补体系统,现已确定C<sub>2</sub>、C<sub>4</sub>及BF在HLA范围内,然此类HLA似与移植物的排异反应无关。现已肯定HLA—A,B及D/DR的配合对移植肾的存活有重要意义,其中HLA—DR的配型更为重要。但在心脏移植中HLA的配型的临床意义并不十分明确。Rose<sup>(1)</sup>发现在“正常心脏”的心肌

细胞表面无Class I、Ⅱ表型,仅在闰盘处偶见Class I表型;在移植后的供心心肌细胞及闰盘处有明显增多的Class I表型。在正常心脏和移植后的供心的间质组织中均有Class I、Ⅱ表型。在心脏的小毛细血管和一些较大的毛细血管内皮细胞上亦有Class—Ⅱ表型,这较前人所发现的Class II的分布范围有所增大。Rose根据其研究结果认为:

(1)移植后的供心心肌细胞上有可诱导出的Class I表型,这可能和急性排异有关;

(2)出现排异时,心脏间质中的Class II增多,这主要是由于单核细胞浸润及毛细血管内皮细胞上的Class II表型增多所致。另外,有人认为HLA—A<sub>2</sub>或A<sub>3</sub>和心脏移植后慢性排异有关,应避免HLA—A<sub>2</sub>或A<sub>3</sub>不配合者实施心脏移植<sup>(2)</sup>。目前,由于各种条件的限制,往往没有时间等待HLA配型,加之近年来HLA配型不符者的术后生存率仍在不断上升,故国外大多数医疗单位在临床上对供、受心的组织配型的最基本要求:

(1)ABO抗原系统一致;(2)淋巴细胞交叉配合试验阴性,若阳性一般不宜行心脏移植,否则有发生超急性排异反应的可能<sup>(3)</sup>。

在70年代,有人发现在肾移植患者中,淋巴细胞交叉配合试验阳性受者和阴性受者间的存活率无显著差异;而一些出现排异的受者此试验始终阴性。基于这一事实,一些学者提出在人体内还存在着其它重要的与移植排异有关的抗原抗体系统。Moraes等人证实人的单核细胞和血管内皮细胞(Vascular Endothelial Cell,简写VEC)表面有独立于HLA的抗原系统<sup>(4-6)</sup>。Brasile

(7) 报告了4例淋巴细胞交叉配合试验阴性的心脏移植患者出现超急性排异反应, 对其中2人立即作第二次心脏移植, 又发生排异, 但淋巴细胞交叉配合试验仍为阴性。后经测定, 证实这4人均有针对供体VEC的抗体。现在有的学者主张在器官移植前测定受者是否存在抗供体VEC。荷兰的Paul实验室在移植前用免疫荧光法测定VEC抗体, 在半小时内即可得出结果。有些研究结果表明供、受者间的单核细胞配合试验和VEC抗体测定的结果是平行关系, 可用前者代替后者。若单核细胞配合试验阳性时, 不论其它组织配型的结果如何, 均不宜作移植术。

为了减少排异, 术前在处理供心时可在心脏灌注液中加入抗淋巴细胞球蛋白(ALG)。移植前即刻给受者免疫抑制剂。常用的有硫唑嘌呤200mg, 强的松500~1,000mg, 兔抗胸腺球蛋白(RATG) 50~100mg。在给RATG24小时内, 90%的心脏移植者循环血液中的T细胞数可减少95%以上。

自1973年Opeltz提出肾移植前输血的观点后, 尽管有人认为这并不能增加移植肾的长期存活<sup>(8)</sup>, 但有许多资料证实此法对肾移植有积极作用。对其作用机制Hormi解释为: (1) 输血能够使受者产生细胞毒抗体, 易使交叉配型试验更准确, 有助于筛选合适的供体; (2) 输血可能诱导受者形成增强抗体或抑制性细胞, 这有益于移植物的存活<sup>(9)</sup>。有人认为输血后受者可产生抗B细胞冷型抗体, 它是一种免疫增强性抗体, 对移植物有益无害。因此在肾移植前给受者输血似乎已成常规。然心脏移植中并未采用此法。心脏外科医师对此有何顾忌尚不得而知。

### 心脏移植后排异的诊断

在现阶段, 除同卵双生外, 同种异体移植患者必然要发生排异反应, 这直接威胁着

移植物和受者存活。目前唯一有效的方法是及时发现排异的发生, 以便及时治疗。

心脏移植后出现急性排异时, 临床医生可根据患者出现心衰的症状和体征作出判断, 但这时多已到排异的晚期, 而且心衰也非排异反应独有, 故还应采取其它方法作为诊断排异的手段。

1. 心电图(EKG)在心脏移植中EKG最早用于诊断心脏排异。其主要改变是QRS波电压降低, 若下降超过20%以上提示排异出现。此外, 尚可发生房性早搏、房扑或房颤、电轴右偏和I°房室传导阻滞。心脏排异时EKG改变虽是非特异性的, 但一般出现排异就会有上述改变, 且出现时间比临床心衰早约2天, 使临床医生有时间进一步检查, 而且由于EKG操作简便, 故不失为一种行之有效的办法。

2. 心内膜活组织检查 1973年Graves等创造了经静脉的心脏活检钳后, 它已成为诊断排异的最为可靠的常规方法。经临床证实, 发生排异时的心内膜组织学改变较EKG的变化早2~3天。其主要改变是心内膜水肿、小血管内皮细胞肿胀、淋巴细胞浸润, 并随排异的轻重不同有心肌纤维分离、退行性变、溶解等改变。一般情况下心脏移植后头3周每周作一次心内膜活检, 然后每2周作1次, 再作3次。以后每3~4个月作一次检查即可<sup>(2)</sup>。当疑有排异时, 则即刻检查。每次心肌活检时要取3~4块组织, 并应在不同部位取材, 以保证活检的准确性。

3. 免疫学监测 虽然心肌活检是目前确诊心脏发生排异最可靠手段, 且几乎无任何并发症<sup>(10)</sup>, 但毕竟是一种有创性检查, 而且从理论上讲, 出现排异时的免疫学变化应该早于心肌的组织学改变, 故多年来许多学者致力于移植后免疫学监测的研究, 以期达到 (1) 更早诊断出受体对心脏排异; (2) 尽量减少心肌活检的次数。

现在临床上常用的方法有：(1)玫瑰花结试验，此法用以测定循环血液中T细胞数量，其正常为1,000~2,000个/cmm。心脏移植后由于应用RATG，T细胞数量一般在正常值的20%以下。出现排异时，T细胞数会有明显增高，这较心肌组织学改变早出现1~3天，此时要提高警惕，加强抗免疫疗法并作心内膜活检。但在停用RATG数周后，T细胞水平会逐渐上升至正常，这时不要误认为是发生排异反应<sup>(11)</sup>。(2)测定循环血中兔球蛋白(RG)的半存留期(T<sub>1/2</sub>)：在T<sub>1/2</sub>较长的病人排异发生率低、首次排异发生的时间晚、存活时期长。对T<sub>1/2</sub>较短的病人要加强免疫抑制治疗。以上这2种方法较简便，但亦是非特异性地反映排异的发生。比较有特异性的方法有补体依赖细胞毒试验、淋巴细胞依赖抗体测定等，但由于这些试验还存在一定问题，尚未在临床普遍应用。

1975年Köhler等创立淋巴细胞杂交瘤技术获得单克隆抗体后，现已能应用多种系列的单克隆抗体结合流动细胞计数器精确测定出不同亚群的T细胞数量。Cosimi等发现在移植肾处于排异时，和OKT<sub>3</sub>（抗人类外周T细胞单克隆抗体）起反应的细胞数增多；OKT<sub>4</sub>（抗人类辅助性/诱导性T细胞单克隆抗体）细胞与OKT<sub>8</sub>（抗人类抑制性/细胞毒性T细胞单克隆抗体）细胞的比值增加，当OKT<sub>4</sub>:OKT<sub>8</sub>>1.3时排异发生率明显增高<sup>(12)</sup>。Mohanakumar等人<sup>(13)</sup>用OKT<sub>8</sub>标记具有转运铁蛋白受体(Transferrin Receptor, 简写TR)的淋巴细胞，发现正常人中TR阳性的淋巴细胞所占百分比是3.5±1.5。在19位心脏移植病人中，当TR细胞>8.0%时，有57.9%人次在2周内发生了急性排异，当<8.0%时仅有6.3%人次出现了排异。在接受急性排异治疗后10天内，TR细胞<8.0%者在随后的4周内无一例再

发生排异；而>8.0%者仍一直处于排异状态，需继续抗排异治疗。当有细菌或病毒感染时，TR细胞数亦有可能增高，此时可通过测定OKT<sub>4</sub>和OKT<sub>8</sub>比值确定是否为感染。该比值为0.28—0.98。若此值下降，即为感染。根据上述结果，Mohanakumar认为TR细胞的测定对于心脏排异的诊断及指导抗排异疗法有一定益处。

### 心脏移植后的抗免疫疗法

心脏移植后出现排异和感染是造成患者死亡的首要因素。而感染患者中有相当一部分人是在出现急性排异应用大量免疫抑制剂继发感染死亡。故如何正确应用抗排异疗法，使其对机体的不利作用减少到最低程度一直是人们关注的问题。

传统的免疫抑制疗法是采用大量肾上腺皮质激素同时合用硫唑嘌呤及RATG，但副作用较多、疗效欠佳。1972年瑞士Sandoz公司Borel发现环孢霉素A(Cyclosporin A, 简称CYA)具有免疫活性。CYA是由11个氨基酸组成的环化多肽，具有抑制细胞毒性T细胞(Tc)<sup>(14)</sup>、使辅助性T细胞(TH)无反应性<sup>(15)</sup>，还可使抑制性T细胞(Ts)活性增强、数量增加<sup>(16)</sup>、TH和TS比值下降等多种效应，从而能够有效地抑制免疫排异反应。1976年Calne首先报告在尸体肾移植中单独应用CYA预防排异获得成功<sup>(17,18)</sup>。1980年CYA开始应用于心脏移植后，减少了由于大量应用传统的免疫抑制剂所引起的骨质疏松、伤口愈合延迟、抵抗力减低，易于并发感染的现象，一年生存率明显提高<sup>(19)</sup>。故目前心脏移植中多采用CYA和小剂量强的松及RATG联合应用的抗排异方案。具体方法是：术前6~12小时CYA12~14mg/Kg。体外循环停止后静脉给甲基氢化泼尼松500mg，4小时后再给125mg，以后每隔8小时一次，再给2次。术后第一天开始服用强的

松0.5mg/Kg, 一天2次, 以后每周减0.1mg/Kg, 在第8周时维持量0.2mg/kg/d。术后前3天还应给RATG2.5~5.0IgG/kg/d。术后CYA用量6~14mg/kg/d, 准确剂量则应根据血肌酸酐、胆红素、CYA浓度及尿量决定。由于90%以上的CYA经由肝脏代谢。故胆红素增高时要减少用量。术后早期要隔天测定CYA浓度, 一般情况下应使其保持在250~1,000ng/ml。CYA的主要副作用是肾毒性, 但一般是可逆的, 在减少用量或停药后可以恢复。近来有报告CYA可造成移植心脏出现心肌周围纤维化和心脏血管病变<sup>(3,23)</sup>, 从而导制心功能衰竭, 这应引起临床医师的警惕。

当患者术后出现排异时, 应静脉给甲基氢化泼尼松1,000mg/d×3。若排异不能控制, 心肌细胞仍出现坏死, 则给RATGlgm/d×3, 能够收到较好的效果<sup>(20)</sup>。另外, 每日还应给肝素, 使凝血酶原时间保持在正常对照值的1.5~2倍, 以减少血小板和纤维素的沉积。

现在有人应用单克隆抗体治疗排异反应<sup>(12,21)</sup>。Russell用OKT<sub>3</sub>治疗肾移植后的急性排异。每天静脉给2mg, 共7~10天。在注入OKT<sub>3</sub>5分钟后90%的T细胞从循环血液中消失, 治疗4~5天后肾功能逐渐恢复正常。Takahashi对此持有不同意见<sup>(22)</sup>。他指出, 在OKT<sub>3</sub>引起周围血中T细胞骤降后, 有相当一部分病人仍再次发生排异, 因此单纯使周围血中T细胞减少以逆转排异, 可能对于移植物的长期存活影响不大。他采用抗淋巴母细胞系的CBL<sub>1</sub>抗体治疗排异。用药后周围血液中的淋巴母细胞及血小板不受影响, 没有应用OKT<sub>3</sub>时的副作用如发冷、寒战等。治疗结果显示逆转排异和防止排异再发的效果均明显优于OKT<sub>3</sub>组。CBL<sub>1</sub>的作用机理可能是将参与排异过程的克隆消除, 使机体处于无反应状态, 而不伤害任何其它免疫活性细胞。作者认为在HLA配型不实用的心脏移植中, 可先用混合淋巴细胞刺激受者, 继用CBL<sub>1</sub>抗体, 可能会有效地消除对移植物敏感的克隆。

### 参 考 文 献

1. Rose ML, Coles mI, Griffin RJ, et al. Expression of class I and Class II major histocompatibility antigens in normal and transplanted human heart. Transplantation 1986; 41 (6): 776.
2. Kirklin JM, Barratt-Boys BG. Cardiac Surgery. New York: John Wiley & Sons, 1986; P. P. 1409—1432.
3. Richard Weil III, Clarke DR, Iwaki Y, et al. Hyperacute rejection of a transplanted human heart. Transplantation 1981; 32 (1): 71.
4. Moraes JR. Eight groups of human endothelial cell allo-antigens. Tis Antig 1976; 8: 263.
5. Cerilli J, Brasile L, Galouzis T, et al. The vascular endothelial cell antigen system. Transplantation 1985; 39: 286.
6. Haisch C, Brasile J, Galouzis T, et al. The importance of the vascular endothelial cell antigen system in non-HLA identical renal transplants. Transp Proc 1985; 17: 128.
7. Brasile J, Zerbe T, Rabin B, et al. Identification of antibody to vascular

- endothelial cells in patients undergoing cardiac transplantation. Transplantation 1985; 40 (6) : 672.
8. Bucin O, Lindholm T, Low B, et al. No beneficial effect of blood transfusion on long-term graft survival in kidney transplantation. Lancet 1984; 1 : 401.
9. Horimi T, Terasaki PI, Chia D, et al. Factors influencing the paradoxical effect of transfusions on kidney transplants. Transplantation 1983; 35 (4) : 320.
10. Caves PK, Schulz WP, Long E, et al. New instrument for transvenous cardiac biopsy. Amer J Cardiol 1974; 33: 274.
11. Oyer PE, Stinson EB, Bieber CP, et al. Diagnosis and treatment of acute cardiac allograft rejection. Transp proc 1979; 11 (1) : 296.
12. Cosimi AB, Colvin RB, Burton RC, et al. Use of monoclonal antibodies to T-cell subsets for immunologic monitoring and treatment in recipients of renal allografts. New Engl J Med 1981; 305 (6) : 308.
13. Mohanakumar T, Hoshinaga K, Wood NL, et al. Enumeration of transferin-receptor-expressing lymphocytes as a potential marker for rejection in human cardiac transplant recipients. Transplantation 1986; 42 (6) : 691.
14. Hutchinson IF, Shadur CA, Duarte A, et al. Mechanisms of cardiac allograft prolongation by cyclosporin-A. Transp Proc 1981; 13: 412.
15. Homan WP, Fabre JW, Williams KA, et al. Studies on the immunosuppressive properties of Cyclosporin A in rats receiving renal allografts. Transplantation 1980; 29: 361.
16. Routhier G, Epstein O, Janossy G, et al. Effects of cyclosporin A on suppressor and inducer T lymphocytes in primary biliary cirrhosis. Lancet 1980; 11: 1223.
17. Calne RY, Rolles K, White DJG, et al. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. Lancet 1979; 11: 1033.
18. Rynasiewicz JJ, Sutherland DER, Simmons RL, et al. Cyclosporin A for the oliguric renal transplant patient. Lancet 1981; 1: 276.
19. Griffith BP, Hardesty RL, Deeb GM, et al. Cardiac transplantation with cyclosporin A and prednison. Ann Surg 1982; 196: 324.
20. Griffith BP, Hardesty RL, Bahnson HT. Powerful but limited immunosuppression for cardiac transplantation with cyclosporine and low-dose steroid. J Thorac Cardiovasc Surg 1984; 87: 35.
21. Russell PS. Monoclonal antibodies in renal transplantation: Preliminary (下转第120页)

13. Christakis GT, Kormos RL, Weisel RD, et al. Morbidity and mortality in mitral valve surgery. *Circulation* 1985; 72: Suppl 211:120.
14. Rushmer RF. Initial phase of ventricular systole: asynchronous contraction. *Am J physiol* 1956; 184:188-94.
15. Rushmer RF. *Cardiovascular Dynamics*. Philadelphia, Saunders, 1970.
16. Danielr A. Goor, Rephael Mohr, Jacob Lavee, et al. Preservation of the posterior leaflet during mechanical valve replacement for ischemic mitral regurgitation and complete myocardial revascularization. *J Thorac Cardiovasc Surg* 1988; 96:253-260.

## • 文摘 •

### 运动诱发无痛性心肌缺血病人发生急性心肌梗塞或心性猝死的危险性

Weiner, CA. 等著

评价运动试验中出现无痛性心肌缺血的病人是否会增加以后发生急性心肌梗塞或心性猝死的危险性,作者将424例这种病人作为第一组。第二组456例冠心病人在运动试验中有缺血性ST段压低和心绞痛发作。第三组1019人均无冠心病,作为对照组。7年内不发生急性心肌梗塞或心性猝死的可能性在第一组分别为80%和91%,第二组分别为82%和39%(两组比较无明显差异)。对照组病人与第一组或第二组比较分别为98%和99%, ( $P < 0.001$ )、运动试验中诱发无症状或有症状的心肌缺血患者以后发生急性心梗和心性猝死的危险性,两者相似。在第一组病人中,7年内不发生急性心肌梗塞和心性猝死

的可能性与冠心病的严重程度及左心室功能不全有关。无痛性心肌缺血病人的预后主要根据造影结果的不同。一支血管病变者及左室功能良好者7年内不发生心肌梗塞或心性猝死的可能性为90%,而三支血管病变者及左室功能不良者7年内不发生心梗和心性猝死的可能性为38%,现在研究已表明对高危性无痛性缺血者用药物治疗或血管成形术将能改善预后,实验也证明一种假设即无痛性心肌缺血可能是缺血性心脏病病人猝死的病理机制之一。

钱荣荣摘译自 *Am J Cardio*

1988;62:1155-1158 陈湛校

(上接第125页)

- result (*Nephology forum*). *Kidney Int* 1981; 20: 530.
22. Takahashi H, Okazaki H, Terasaki PI, et al. Reversal of transplant rejection by monoclonal entilast antibody. *Lancet* 1983; 11: 1155.
  23. Laczkovics A, Havel M, Teufelsbauer H, et al. Cyclosporin-A induced heart failure after orthotopic heart trasplatation. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon* 1987; 35: 83.