

# 肺移植后闭塞性细支气管炎综合征的危险因素与发病机制

牛永胜 综述 范慧敏, 刘中民 审校

(同济大学附属东方医院胸心外科, 上海 200120)

**[摘要]** 闭塞性细支气管炎综合征 (bronchiolitis obliterans syndrome, BOS)是影响肺移植术后长期存活的最主要并发症,且加强免疫抑制和抗炎治疗效果不佳。肺移植后导致闭塞性细支气管炎综合征的机制涉及免疫和非免疫因素启动气道上皮、细胞外基质、新生血管及淋巴管系统的进行性损伤与异常增生重塑,形成恶性循环。其中内源性免疫是导致细支气管炎闭塞和发展为 BOS的主要致病因素,但各种感染或化学损伤可能导致激活树突状细胞的危险信号释放,从而激发排斥反应。因此,降低非依赖同种异体免疫因素的风险与治疗免疫排斥同样重要。

**[关键词]** 肺移植; 闭塞性细支气管炎; 慢性排斥; 适应性免疫; 天然免疫

**[中图分类号]** R392.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1673-2588(2009)02-0135-04

## Pathogenetic factors and mechanisms of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation

NIU Yongsheng FAN Huimin LIU Zhongmin

(Department of Cardiovascular and Thoracic Surgery, Shanghai East Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200120, China)

**[Abstract]** Bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) is the single most important complication that limits the long-term survival following lung transplantation. Current treatment of BOS is disappointing despite advances in immunosuppressive and anti-inflammatory therapies. The mechanisms of BOS involve both immunemediated pathways (rejection, autoimmune-like mechanisms) and alloimmune independent pathways (infection, aspiration, ischemia, primary graft failure), which lead to a continuous cycle of ongoing injury and aberrant remodeling in the airway epithelium, stroma, vasculature and lymphoid system. Although most studies suggest that immune injury is the main pathogenic event in small airway obliteration and the development of BOS. The triggering of innate immunity by various infections or chemical injuries may lead to the release of danger signals that are able to activate dendritic cells, a crucial link with adaptive immunity. Inflammation can also increase the expression and display of major histocompatibility antigens and thus favor the initiation of rejection episodes. Therefore, reducing the risk of alloimmune independent factors may be as important as treating acute episodes of lung rejection.

**[Key words]** lung transplantation; bronchiolitis obliterans; chronic rejection; adaptive immunity; innate immunity

[Int J Pathol Clin Med 2009, 29(2): 0135-04]

肺移植已经成为终末期肺疾病的唯一有效的治疗方法,近 20 年来,外科手术和免疫抑制剂的改善明显提高了肺以及心肺联合移植患者术后的生存率。然而,闭塞性细支气管炎综合征 (bronchiolitis

收稿日期: 2008-11-12 修回日期: 2009-01-06

作者简介: 牛永胜, 博士研究生, 主治医师, 主要从事心胸外科术后监护治疗研究。

通讯作者: 刘中民, E-mail: zhongmin\_liu@sina.com

基金项目: 国家自然科学基金 (30772150)。 This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (30772150).

obliterans syndrome BOS)仍然是肺移植后长期存活的主要障碍<sup>[1]</sup>。肺移植术后 3 年内由于 BOS 导致的死亡率超过 30%，移植存活 5 年者发生 BOS 的几率为 44%~60%，且存活率仅为 30%~40%，比未出现 BOS 的人群低 20%~40%<sup>[2-3]</sup>。目前，临床应用环孢菌素 A 和他可莫司等免疫抑制药物对控制急性肺移植排斥反应有一定效果，但对 BOS 的疗效不佳。因此，探索 BOS 的危险因素与发病机制对防治新策略的研究具有重要临床意义。

BOS 最早由斯坦福大学于 1984 年报道，1 例心肺移植患者术后出现进行性一秒用力呼气容量 (forced expiratory volume in one second FEV<sub>1</sub>) 降低，经支气管镜肺活检显示管腔内纤维肉芽组织增生和广泛的黏膜下嗜酸性细胞浸润<sup>[4]</sup>。因为较难充分开展支气管活检技术，以及病灶的不均匀分布，国际心肺移植协会定义 BOS 为不可逆的 FEV<sub>1</sub> 降低至少 20% 预期基础值，并且制定了详细分期：FEV<sub>1</sub> 低于基线 10%~19% 或用力呼气中期流率 (forced mid expiratory flow rates FEF<sub>25-75</sub>) 低于基线 25% 为潜在 BOS 期 (BOS 0~D)；FEV<sub>1</sub> 在 66%~80% 预期基础值为 1 期；FEV<sub>1</sub> 在 51%~65% 预期基础值为 2 期；FEV<sub>1</sub> 在 0~50% 预期基础值为 3 期<sup>[5]</sup>。BOS 常在移植后 16~20 月发生，多数患者进行性发展，伴随反复的下呼吸道感染，对增加免疫抑制治疗反应差，而且越早出现 BOS 肺功能越差。

## 1 BOS 的危险因素

### 1.1 抗原相关因素

肺移植后的急性排斥反应作为 OB 的危险因子已经被广泛接受。急性排斥事件、淋巴细胞性细支气管炎炎、人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen HLA)-A、-B 和 -DR 基因座不匹配、术前存在抗人 HLA 抗体等因素均增加 OB 的危险性，其中急性排斥诱导直接针对气道上皮细胞和内皮细胞的免疫损伤，是 BOS 发展中最重要危险因素<sup>[6]</sup>。受者 CD4<sup>+</sup> T 细胞对不匹配的主要组织相容性复合物 (major histocompatibility complex MHC) 和 II 高度敏感。在抗原识别的作用形式中，受者抗原递呈细胞递呈供者不匹配的 MHC 分子给受者 T 细胞介导的间接识别在慢性排斥中发挥重要作用，较供者抗原递呈细胞驱动的直接识别作用更大。体液免疫机制在 BOS 发生中也起重要作用，抗 MHC 抗体不仅激活补体介导的组织损伤，同时也诱导细胞活化，与 BOS 早期进展密切相关，从而降低生存率<sup>[7]</sup>。抗

MHC 抗体激活气道上皮细胞诱导产生纤维增生性生长因子如血小板衍生的生长因子，从而促进了成纤维细胞的增生<sup>[8]</sup>。另外，气道上皮细胞作为免疫靶点，其形成的针对供体特异 MHC I 型抗原的气道上皮细胞抗体对其他不同类型细胞系 (如平滑肌细胞和成纤维细胞) 不发生反应；MHC I 和 II 型分子在排斥肺上皮中均上调，而在正常肺上皮不上调，说明 HLA 不匹配与 BOS 的形成有关，移植前抗 HLA 抗体阳性者增加了急性排斥和 BOS 的发生几率<sup>[9]</sup>。而且，BOS 患者支气管肺泡灌洗液或血液中可检出直接针对供体特异性 I 型 HLA 抗原的淋巴细胞，抗 MHC I 和 II 型的出现早于 BOS 的发生。但是许多有急性排斥反应史的病人并没有形成 BOS 而有些 BOS 患者却从没有急性排斥病史<sup>[10]</sup>，提示影响 BOS 发生的因素具有多元性。

### 1.2 非抗原相关因素

肺脏乃与外界相通的器官，大量病原体可直接与气道上皮接触，病原体的某些固有组分，即病原相关的分子模式 (pathogen associated molecular pattern PAMP) 可通过与单核/巨噬细胞、树突状细胞 (dendritic cell DC)、NK 细胞表面相应受体 (主要是 Toll like receptor TLR) 结合而启动固有免疫应答和适应性免疫<sup>[11]</sup>，导致移植排斥反应发生。固有免疫应答参与同种异体 (急性) 移植排斥反应的机制是：(1) 抗原递呈细胞等分泌炎症细胞因子 (如 IL-6、TNF、IL-2 等)，直接介导移植体炎症反应；(2) 不同成熟阶段的 DC 均不同程度地影响调节性 T 细胞的免疫活性，PAMP/TLR (除 TLR-3 外) 信号通路活化可促进抗原递呈细胞 (尤其是 DC) 成熟，促进抗原递呈细胞表达 CD80、CD86 和 MHC II 分子，激活的树突状细胞、巨噬细胞等可促进同种抗原特异性 T 细胞激活和分化，从而介导移植排斥反应<sup>[12]</sup>。巨细胞病毒 (cytomegalovirus CMV) 性肺炎是 BOS 的危险因子<sup>[13-14]</sup>。CMV 感染通过产生细胞因子和增加 MHC 表达促进移植排斥，临床研究表明肺移植后预防性应用更昔洛韦联合 CMV 超免疫球蛋白可推迟 BOS 的发展<sup>[15]</sup>。另外，BOS 的发生具有季节性，并且与不同呼吸道病毒如流感病毒、副流感病毒、呼吸道合胞病毒、腺病毒的高峰季节相关，提示其他非 CMV 病毒及细菌感染也可能参与了 BOS 的发展<sup>[12]</sup>。肺移植后绿脓杆菌的定殖增加了 BOS 的风险<sup>[16]</sup>，大环内酯类药物如阿奇霉素和克拉霉素通过抑制一定的病原菌如绿脓杆菌而发挥抗炎和免疫调节作用。临床观察，BOS 患者

肺泡灌洗液中中性粒细胞明显升高,克拉霉素可通过降低白细胞介素-8(interleukin-8, IL-8)的分泌而抑制肺内中性粒细胞的浸润。也有研究显示经过6月阿奇霉素治疗,BOS患者气道内中性粒细胞明显降低,肺功能得到有效改善<sup>[17]</sup>。

化学性损伤如误吸引起损伤反应,可能导致激活树突状细胞的危险信号释放,增加主要组织相容性同种异体抗原的表达和释放,从而激发排斥反应。“损伤反应”的观点认为损伤诱导固有损伤反应促进免疫识别,这种损伤反应自我强化以至不可逆。胃食管返流在终末期肺病中很常见,尤其是特发性肺纤维化和囊性纤维化患者。肺移植术中损伤迷走神经、气道去神经及术后药物诱导胃轻瘫等也增加了肺移植后胃食道反流的发生。已有报道误吸是BOS的危险因素,肺移植后肺泡灌洗液中普遍含有胃蛋白酶,而约70%的BOS患者肺泡灌洗液中含有胆汁酸,提示胆汁酸是发生BOS的一项较特异指标,与IL-8及中性粒细胞呈正相关,可以诱导慢性炎症和细菌感染<sup>[18]</sup>。Cantu等<sup>[19]</sup>证明胃食管返流的肺移植患者早期行胃底折叠术有利于提高生存率,并且认为早期胃底折叠术可能延迟BOS的进展从而延长生存。

供体年龄和缺血时间作为可疑危险因素尚不明确。一些移植组证明移植后最初几天气道缺血对BOS有影响,供体支气管动脉与受体乳内动脉吻合重建支气管动脉循环可以改善血供,促进气道愈合,从而可能延迟BOS的发生<sup>[20]</sup>。高龄供体与移植后最初几小时内移植物失去功能相关,而供体年龄与BOS发生率及术后1年存活率无统计学差异。同样,延长的缺血时间不是增加BOS的独立危险因素,只有年龄在55岁以上合并缺血时间在7 h以上对移植后2年生存有负效应<sup>[21]</sup>。

## 2 BOS的发病机制

BOS的病理组织学特征是小气道上皮细胞和上皮结构反复的损伤和炎症,伴随不健全的修复导致过度纤维增生和无效的上皮再生,引起异常组织修复和小气道闭塞<sup>[13]</sup>。目前肺移植后导致BOS的确切发病机制尚不十分清楚,其中大部分证据显示内源性免疫是导致细支气管闭塞和发展为BOS的主要致病因素,但各种感染或化学损伤可能导致激活树突状细胞的危险信号释放,增加主要组织相容性同种异体抗原的表达和释放,从而激发排斥反应。

因此,降低非特异性同种异体免疫因素的风险与治疗

免疫排斥同样重要。

一些研究发现BOS患者支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage, BAL)中的中性粒细胞增多并伴有中性粒细胞弹性蛋白酶增多和白细胞蛋白酶抑制物减少<sup>[22]</sup>。参与BOS炎症的主要介质之一是IL-8,它属于趋化因子家族,是中性粒细胞重要的趋化和激活因子,由气道上皮细胞和平滑肌细胞产生。IL-8浓度越高,中性粒细胞在气道中的浸润数量也就越多。同时在BOS患者的气道活检中发现气道上皮层中树突状细胞增多。它们可以诱导T细胞激活,进而激活局部和全身的免疫反应。参与纤维增生期的主要细胞是类成纤维细胞,介质包括前纤维化细胞因子,如成纤维生长因子、内皮素-1(endothelin, ET-1)、血小板源性生长因子、转化生长因子- $\beta$ 、类胰岛素生长因子-1。它们促进细胞外基质沉积、平滑肌细胞增生、血管生成和纤维过度增生。肺移植患者在感染时体内ET-1会上调,吸引中性粒细胞和嗜酸性粒细胞,也具有致纤维化的特性。对小鼠气管异位移植模型的研究发现在BOS发展过程中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)-9和金属蛋白酶组织抑制因子(tissue inhibitor of metalloproteinase, TIMP)-1表达均上调,但早期(1~14 d)MMP-9表达占优势,表现为组织间质水肿,淋巴细胞浸润,上皮纤毛缺失伴随部分上皮脱落。后期(14~28 d)TIMP-1表达占优势,活性增强,抑制了肺组织正常的修复和胶原降解,主要表现为纤维增生性改变:气管壁成纤维母细胞增生,间质向心性增生,伴大量胶原沉积,局部气管实变<sup>[23]</sup>。最近研究发现临床肺移植中BOS与特异性分泌干扰素- $\gamma$ 和胶原V的Th1细胞的增加及特异性分泌IL-10的Th2细胞减少有关<sup>[24]</sup>。一类不同于传统Th1和Th2的CD4<sup>+</sup>T细胞亚群,即Th17细胞,通过产生IL-17对抗胶原V并诱导气道上皮细胞和血管内皮细胞释放IL-8,使胶原V片段降解和释放从而激活自身免疫反应<sup>[25]</sup>。

总之,BOS动物试验及临床研究表明免疫损伤和非免疫损伤(缺血、再灌注损伤、感染、误吸等)启动了气道上皮细胞一系列连锁免疫反应,通过破损的基底膜募集和激活大量的炎性细胞、上皮细胞、T淋巴细胞、活化的巨噬细胞和平滑肌细胞,分泌大量的前炎性细胞因子和化学趋化因子导致了活化中心粒细胞的聚积,而这些细胞又加速了前炎性细胞因子及化学趋化因子的产生,形成恶性循环,并且释放

了大量的活性氧化物（ROS）和蛋白酶，导致进一步的气道损伤。巨噬细胞可特异产生前纤维化细胞因子，从而吸附和增殖纤维母细胞，大量增生和分泌胶原，导致细胞外基质沉积和平滑肌细胞增殖。这样，气道上皮由于各种原因损伤后，无效上皮增生，大量炎性反应，导致迷行组织瘢痕修复，最终引起气道的闭塞。对 BOS发病机制的研究将有助于发现新的有效治疗策略以阻止该疾病的进展，从而改善肺移植后长期存活率。

参 考 文 献

[ 1 ] Christopher MB, Jom C, Jann M, et al. Long-term survival after lung transplantation depends on development and severity of bronchiolitis obliterans syndrome. J. J Heart Lung Transplant 2007; 26(7): 681-686

[ 2 ] Trulock EP, Edwards LB, Taylor DO, et al. Registry of the international society for heart and lung transplantation: twenty-third official adult lung and heart-lung transplantation report. J. J Heart Lung Transplant 2006; 25(8): 880-892

[ 3 ] Trulock EP, Christie JD, Edwards LB, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult lung and heart-lung transplantation report 2007. J. J Heart Lung Transplant 2007; 26(8): 782-795

[ 4 ] Burke CM, Theodore J, Dawkins KD. Post-transplant obliterative bronchiolitis and other late lung sequelae in heart-lung transplantation. J. Chest 1984; 86(6): 824-829

[ 5 ] Estenne M, Maurer JR, Boehler A. Bronchiolitis obliterans syndrome 2001: an update of the diagnostic criteria. J. J Heart Lung Transplant 2002; 21(3): 297-310

[ 6 ] Buron CM, Iversen M, Scheike T, et al. Minimal acute cellular rejection remains prevalent up to 2 years after lung transplantation: a retrospective analysis of 2697 transbronchial biopsies. J. Transplantation 2008; 85(4): 547-553

[ 7 ] Palmer SM, Davis RD, Hadjiliedis D, et al. Development of an antibody specific to major histocompatibility antigens detectable by flow cytometry after lung transplant is associated with bronchiolitis obliterans syndrome. J. Transplantation 2002; 74(6): 799-804

[ 8 ] Jaramillo A, Smith CR, Maruyama T, et al. Anti-HLA class I antibody binding to airway epithelial cells induces production of fibrogenic growth factors and apoptotic cell death: a possible mechanism for bronchiolitis obliterans syndrome. J. Hum Immunol 2003; 64(5): 521-529

[ 9 ] Jaramillo A, Naziruddin B, Zhang L. Activation of human airway epithelial cells by non HLA antibodies developed after lung transplantation: a potential etiological factor for bronchiolitis obliterans syndrome. J. Transplantation 2001; 71(7): 966-976

[ 10 ] Al-Ghamdi J, Barawi N, Shigenura N, et al. Bronchiolitis obliterans following lung transplantation. J. Eur J Cardiothorac Surg

[ 11 ] 许长涛, 李为民, 姚咏明. 调节性 T 细胞免疫效应的调节机制 [ J ]. 国际病理科学与临床杂志, 2008; 28(3): 199-204

XU Changtao, LI Wei min, YAO Yongming. Regulating mechanism of regulatory T cells in immunoregulatory response. J. International Journal of Pathology and Clinical Medicine 2008; 28(3): 199-204

[ 12 ] Nicod LP. Mechanisms of airway obliteration after lung transplantation. J. Proc Am Thorac Soc 2006; 3(5): 444-449

[ 13 ] Bonatti H, Taberelli W, Rutmann E, et al. Impact of cytomegalovirus match on survival after cardiac and lung transplantation. J. Am Surg 2004; 70(8): 710-714

[ 14 ] Westall GP, Michaeles A, Williams TJ, et al. Bronchiolitis obliterans syndrome and early human cytomegalovirus DNAemia dynamics after lung transplantation. J. Transplantation 2003; 75(12): 2064-2068

[ 15 ] Rutmann E, Gelmer C, Bucher B, et al. Combined CMV prophylaxis improves outcome and reduces the risk for bronchiolitis obliterans syndrome (BOS) after lung transplantation. J. Transplantation 2006; 81(10): 1415-1420

[ 16 ] Bontha P, Archer L, Anderson R, et al. Pseudomonas aeruginosa colonization of the allograft after lung transplantation and the risk of bronchiolitis obliterans syndrome. J. Transplantation 2008; 85(5): 771-774

[ 17 ] Gottlieb J, Szanagolies J, Koehnle T, et al. Long-term azithromycin for bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. J. Transplantation 2008; 85(1): 36-41

[ 18 ] Blondeau K, Mertens V, Vanaudenaerde BA, et al. Gastroesophageal reflux and gastric aspiration in lung transplant patients with or without chronic rejection. J. Eur Respir J 2008; 31(4): 707-713

[ 19 ] Canu III E, Appel III JZ, Harweg MG, et al. Early fundoplication prevents chronic allograft dysfunction in patients with gastroesophageal reflux disease. J. Ann Thorac Surg 2004; 78(4): 1142-1151

[ 20 ] Mason DP. Lung transplantation 2007: we are making progress. J. Curr Opin Organ Transplant 2007; 12(5): 451-452

[ 21 ] Meyer DM, Bennett LE, Novick RJ, et al. Effect of donor age and ischemic time on intermediate survival and morbidity after lung transplantation. J. Chest 2000; 118(5): 1255-1262

[ 22 ] Vanaudenaerde BM, Wuyts WA, Geudens Nele, et al. Bronchoalveolar lavage fluid recovery correlates with airway neutrophilia in lung transplant patients. J. Respir Med 2008; 102(3): 339-347

[ 23 ] Sax M, Keshavjee S. Bronchiolitis obliterans syndrome: alloimmune-dependent and -independent injury with aberrant tissue remodeling. J. Sem in Thorac Cardiovasc Surg 2008; 20(2): 173-182

[ 24 ] Bhamra A, Fields RC, Steward N, et al. CD4+ 25+ regulatory T cells limit Th1- autoimmunity by inducing IL-10 producing T cells following human lung transplantation. J. Am J Transplant 2006; 6(8): 1799-1808

[ 25 ] Burlingham WJ, Love RB, Jankowska-Gan E, et al. IL-17-dependent cellular immunity to collagen type V predisposes to obliterative bronchiolitis in human lung transplants. J. Clin Invest