维普资讯 http://www.cqvip.com

局解手术学杂志 2004年第13卷第2期
J Regional Anat & Operative Surg, 2004, Vol. 13, No. 2

器官移植中的基因治疗

Gene therapy in organ transplantation

冯嘉瑜，张艮甫
（第三军医大学附属新桥医院泌尿外科，重庆 400037）

[关键词] 器官移植；基因治疗
[中图分类号] R617；S857.134 [文献标识码] B [文章编号] 1672－5042(2004)02－0124－02

基因治疗是解决器官移植排斥一个很有潜力的方案，而且有着独特的优点。器官移植是把一个个体的组织或器官切取下来移植给另一个个体，这就为我们提供了一个在体外使用转基因载体改造供体器官或组织的时机。这样就可以在局部表达免疫移植抑制分子，让受者免于全身使用免疫抑制剂，而且有望达到抗原特异性耐受的状态。现就有关内容综述如下。

1 对免疫因素的调节

1.1 T细胞反应体系

同种异体免疫反应是一种T细胞依赖的过程。涉及自然杀伤细胞、B细胞、巨噬细胞、细胞因子和趋化因子。T细胞识别抗原提呈细胞（APC）表面的主要组织相容性复合物（MHC）沟槽内的抗原肽，这被称为第一信号的传导，但是T细胞的完全激活只有第一信号是不够的。第二信号（也称共刺激信号）同时也由APC通过T细胞表面的一些特殊受体提供给T细胞，这些受体是CD28、CD152、CD154等，他们在APC上相应的配体为CD80、CD86、CD40。我们通过使用CTLA4的融合蛋白和/或CD154的单克隆抗体成功的使移植物长时间被受体接受[1]。

1.2 主要组织相容性复合物（MHC）

尽管异体MHC是异体免疫反应的主要目标，研究表明通过DNA介导的MHC I类分子和II类分子的基因转染，可以使鼠的心脏移植物长期存活，使用包含供者MHC I类抗原cDNA的脂质体转染受者的肝细胞，在预致敏大鼠动物模型中成功的避免了血细胞凝集反应并使移植物长期存活[2]。这些研究提示，可以通过将供者MHC提供给受者骨髓细胞这种基因治疗，达到诱导移植耐受的目的。通过复制缺陷型腺病毒载体让CTLA4-Ig在冷藏的鼠肝模型中局部表达的效应，能使受者得到抗原特异性的无反应性，并使移植物长期存活[3]。对CD154的基因转染还没有太多的研究。

1.3 细胞因子

大量的研究表明细胞因子在移植物被接受和产生移植耐受中具有重要作用。来自Th1的细胞因子（比如：白细胞介素-2，γ-干扰素）可以通过迟发超敏反应、细胞毒性T细胞（CTL）以及巨噬细胞的激活来增强移植物的排斥。然而Th2来源的细胞因子（如：白细胞介素-4，白细胞介素-10）可以通过下调免疫反应来避免排斥反应。使用免疫抑制分子进行基因治疗，如白细胞介素-10就被用各种不同的载体（单纯的DNA质粒、逆转录病毒等）进行基因治疗，且在鼠和兔的心脏移植中明显地延长了移植物的存活时间[4]。实验证明TGF-β可以延长鼠的心脏和肝脏移植物的存活[5]，但TGF-β可导致移植物纤维化，所以它在慢性排斥中也扮演了重要的角色。

1.4 趋化因子

趋化因子是一类分泌型蛋白质，它们在炎症中产生，被白细胞调节，并被淋巴细胞所补充。研究显示，趋化因子在移植排斥反应中扮演着重要的角色。vMIP-II和MC148编码于人类疱疹病毒8和触染性软疣病毒上，它们对CC和CXC这些趋化因子的多种受体有拮抗作用。通过质粒介导转染这些趋化因子的拮抗物可以显著延长鼠心脏移植物中血管或非血管部分的存活[6]。这些以趋化因子功能为目标的基因治疗开辟了一条减少同种免疫反应的新思路。

1.5 Fas/Fas-L系统

要降低同种免疫反应，还需要下调效应阶段的激活，这些都通过抑制T细胞和激活的T细胞得到实施。T细胞表面表达CTLA4可以使APC传给T细胞一个抑制信号，Fas/Fas-L系统在诱导淋巴细胞调亡中有重要的作用，而且可以中止免疫反应。使用脂质体介导的pFasL转染鼠移植肝脏中可以显著延长移植物的存活时间。

1.6 $CD4^+$ T细胞

研究中发现$CD4^+$ T细胞的一些亚群有抑制排斥反应的作用。这些细胞可以减少抗$CD4^+$细胞单抗的使用，并使受者产生抗原特性耐受。近年来在小鼠心脏移植中使用抗$CD4^+$ T细胞的抗体和用腺病毒转染供者MHC-I抗原的骨髓细胞的研究中发现这样的方法可以使小鼠产生很好的抗原特异性耐受表明通过使用基因治疗改造骨髓细胞可以诱导那些具有抑制排斥反应的调节性T细胞，这是一个基因治疗中又一个有潜力的途径。

1.7 次级淋巴组织

近年来研究发现次级淋巴组织在同种免疫中有着重要的角色，鼠心脏移植物被没有次级淋巴组织的受者所接受，这提示了同种免疫在没有次级淋巴组织的受体不能被启动，必须要

[收稿日期] 2004－01－08 [修回日期] 2004－02－27

维普资讯 http://www.cqvip.com

次级淋巴组织参与方可激活。提示次级淋巴组织可能是我们进行基因治疗的靶点。树突状细胞(DCs)是一种高度专职的抗原提呈细胞(APCs),它在T细胞激活和中心、外周免疫耐受中扮演着至关重要的角色,最近一些研究也证明使用编码CTLA4Ig的腺病毒载体处理DCs可以获得抗原特异性的T细胞低反应性。

2 对非免疫因素的调节

2.1 缺血-再灌注损伤

缺血-再灌注损伤是早期非免疫因素导致移植物丢失的重要原因。它导致活性氧的产生,从而损伤内皮细胞,引起移植物细胞死亡或者通过细胞因子、粘附分子、白细胞聚集导致移植物发生急性和慢性排斥。阻断这些因素也是基因治疗的热点,在发生缺血-再灌注损伤前,通过基因转染线粒体超氧化物歧化酶到鼠的肝脏中,结果显示降低了氧化反应介导的核因子-κB和蛋白1的激活,肝脏的急性损伤则明显减少了[7]。

2.2 凋亡

凋亡在器官保存和排斥反应中也扮演着重要的角色,在移植物中高表达抗凋亡基因可以防止缺血-再灌注损伤导致的凋亡反应,用Bcl-2重组腺病毒载体转染鼠肝,可以显著减少肝细胞损伤和凋亡细胞的数目。

2.3 一氧化氮

内皮细胞来源的一氧化氮(NO)是一种内生性的血管损伤抑制因子。通过仙台病毒/脂质体将NO合酶转染到鼠颈动脉内皮细胞中,显著的降低了新生内皮细胞结构中的泡沫性损害。重组腺病毒介导的NO合酶的基因转染完全的抑制了没有处理和环孢素A处理的鼠主动脉移植物的动脉硬化改变。

2.4 细胞间粘附分子-1

细胞间粘附分子-1(ICAM-1)是细胞粘附和T细胞共刺激时的重要介质,在体外高浓度转染ICAM-1的反义寡核酐酸来阻断ICAM-1的表达,结果在鼠心脏移植物中减少了慢性移植物血管病变和再灌注损伤[8]。

3 异种移植

由于器官短缺是开展移植的一个很大的障碍,这也促使人们去寻找可供移植的非人类器官,即异种器官移植。而异种移植成功的关键在于克服三种不同类型的免疫排斥反应。首先是超急性排斥反应(Hyper-acute Rejection, HAR),移植物的内皮细胞通过抗体介导的补体激活使移植器官在几分钟到几小时内发生HAR。那些抗异种抗原的抗体首先识别特殊的糖结构,比如:Galα1-3Gal,人没有这些抗原,但是却有针对它的抗体。这个位点是由半乳糖基转移酶所合成,所以我们通过逆转录病毒将同源的半乳糖基转移酶基因转染到骨髓细胞中,这样成功的克服了异种移植出现的HAR。HAR的效应阶段是补体的级联放大激活,所以当移植物内皮细胞出现补体调节蛋白(CRPs)就可以调节补体的激活。这些蛋白包括衰变促进因子(DAF, CD55)、膜辅助蛋白(MCP, CD46)和CD59。异种移植物的内皮细胞严重损害就是因为缺乏这些补体调节蛋白。通过培养转人CRPs基因的猪,就解决了补体介导的内皮细胞损伤。其次,是急性血管性排斥反应、这可能是非T细胞介导的或者由抗体、巨噬细胞、细胞因子、趋化因子导致的。第三,是T细胞介导的排斥反应、我们可以使用同种移植中的很多方法来克服它,比如使用CTLA4Ig、TGF-β、IL-10、CD40Ig、CD154Ig等等。

总之,目前基因治疗还处在探索的初期阶段,它给同种和异种的器官移植带来了新的希望。发展转基因载体和转基因技术,以获得最好的转染效果和最小的毒性,并且能够在器官移植中使用那些有效的基因或者基因组合,这将是移植界一个重要的研究领域。

[参考文献]

[1] Gudmundsdottir H, Turka LA. T cell costimulatory blockade: new therapies for transplant rejection[J]. J Am Soc Nephrol, 1999, 10(6): 1356 - 1365.

[2] Geissler EK, Graeb C, Tange S, et al. Effective use of donor MHC class I gene therapy in organ transplantation: prevention of antibody-mediated hyperacute heart allograft rejection in highly sensitized rat recipients[J]. Hum Gene Ther, 2000, 11(3): 459 - 469.

[3] Olthoff KM, Judge TA, Gelman AE, et al. Adenovirus-mediated gene transfer into cold-preserved liver allografts: survival pattern and unresponsiveness following transduction with CTLA4Ig[J]. Nat Med, 1998, 4(2): 194 - 200.

[4] Qin L, Chavin KD, Ding Y, et al. Retrovirus-mediated transfer of viral IL-10 gene prolongs murine cardiac allograft survival[J]. J Immunol, 1996, 156(6): 2316 - 2323.

[5] Qin L, Chavin KD, Ding Y, et al. Multiple vectors effectively achieve gene transfer in a murine cardiac transplantation model. Immunosuppression with TGF-1 or vIL-10[J]. Transplantation, 1995, 59(6): 809 - 816.

[6] DeBruyne LA, Li K, Bishop DEK, et al. Gene transfer of virally encoded chemokine antagonists vMIP-II and MC148 prolongs cardiac allograft survival and inhibits donor-specific immunity[J]. Gene Ther, 2000, 7(7): 575 - 582.

[7] Zwacka RM, Zhou W, Zhang Y, et al. Redox gene therapy for ischemia/reperfusion injury of the liver reduces AP1 and NF-kappaB activation[J]. Nat Med, 1998, 4(6): 698 - 704.

[8] Feeley BT, Poston RS, Park AK, et al. Optimization of ex vivo pressure mediated delivery of antisense oligodeoxynucleotides to ICAM-1 reduces reperfusion injury in rat cardiac allografts[J]. Transplantation, 2000, 69(6): 1067 - 1074.

(编辑:兰阳军)