维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)04－0551－04

细胞凋亡在器官移植中的作用

黄 平 综述，姚榛祥 审校

(重庆医科大学临床学院器官移植研究室 400016)

【中国图书分类法分类号】R617 【文献标识码】B 【收稿日期】2000－10－26

凋亡(apoptosis)，亦称程序性细胞死亡(programmed cell death)，主要表现为细胞萎缩，胞膜皱褶或起泡，染色质致密或边聚，完整的细胞膜包裹细胞器及其碎片形成凋亡小体。细胞凋亡后其基因组DNA被特异性核酸内切酶分解为具有特征性的180～220bp核苷酸片段。多种因素可启动细胞内部基因，调控细胞凋亡。细胞凋亡在许多领域均有重要作用，对其在器官移植中的作用研究正成为现代移植免疫学的热点之一。

1 细胞凋亡在各器官移植中的作用

1.1 心脏移植与细胞凋亡

在大鼠同种异体心脏移植模型中，Szabolcs等[1]发现移植后3～5天心肌细胞凋亡数量快速上升，从0.31/mm^{2}上升至1.27/mm^{2}心室组织。第5天移植物中心肌细胞，巨噬细胞和内皮细胞的凋亡数量均比同系移植物显著增多。认为移植排斥时心肌细胞大量凋亡，且可能为一氧化氮所诱导。最近报道细胞凋亡与急性排斥反应的严重程度显著相关，并有助于急性排斥反应的诊断[2]。在小鼠心脏移植的研究中，Bergese等[3]报道同系移植物的心脏中未检出凋亡细胞；同种移植物在移植后第3天细胞凋亡最多，发生排斥时(第10天)细胞凋亡数量下降50%，且凋亡细胞局限于细胞浸润区而未累及心肌细胞；使用抗CD4单抗或亚硝酸镓诱导免疫耐受的同种移植心脏中细胞凋亡数量相对增多。但White等[4]则在同系移植心脏和同种异体移植心脏中均检出凋亡细胞。

Laguens等[5]分析6例临床心脏移植后的63次心肌内膜活检标本，结果发现移植成功后立即取材的活检标本中无细胞凋亡，但在排斥时心肌细胞、毛细血管内皮细胞和结缔组织均有细胞凋亡，其发生率与排斥反应的组织学分级呈正相关。Szabolcs等[6]分析人心脏移植30例发生排斥的心肌内膜活检标本和12例无排斥反应的活检标本，发现发生排斥反应的凋亡细胞比无排斥反应时增加30倍，且凋亡的心肌细胞多数邻近巨噬细胞丰富的炎症反应区，认为细胞凋亡是人心脏移植排斥时心肌细胞死亡的主要形式。

Josien等[7]发现大鼠同种移植心脏在急性排斥时Fas配体(FasL)和TNF－2的表达和细胞凋亡的数量均增多，于移植后一周达高峰，主要为浸润至移植物的细胞发生凋亡；而同期经供体特异性输血诱导的免疫耐受移植物中，细胞凋亡数量及FasL和TNF－α表达的水平均很低。Bergese等[3]发现小鼠同种心脏移植60天后，凋亡细胞增多，成簇排列在移植物大动脉内及其周围，而炎症细胞浸润区凋亡细胞很少，与慢性排斥时动脉硬化改变相一致。White等[4]发现慢性排斥时有细胞凋亡，并与移植物血管病变有关。

心脏移植中细胞凋亡在移植排斥和耐受中的作用尚不十分清楚，现有的报道也不尽一致，但倾向于细胞凋亡在急性心脏移植排斥时增多，免疫耐受时降低。心肌细胞的凋亡可能是急性排斥时心脏功能衰竭的原因，而浸润至移植心脏的受体免疫细胞凋亡则可能使移植心脏免遭破坏，获得免疫耐受。在慢性排斥时，细胞凋亡可能是引起动脉病变的主要原因。

1.2 肝移植与细胞凋亡

Krams等[8]于1995年首次报道大鼠同种肝移植物中凋亡细胞数量随时间而增加，于移植后第7天达高峰(平均凋亡指数为1.58)；但同系移植物中

作者介绍：黄 平(1969－)，男，主治医师，博士，主要研究方向：器官移植外科。

维普资讯 http://www.cqvip.com

则无类似发现(移植后第 7 天平均凋亡指数为 0.13);并发现细胞凋亡与排斥时的病理学改变,单核细胞浸润和肝酶升高相一致,且 TGF-β1 表达增加可致细胞凋亡。Qian 等[9]发现移植肝内的供体 T 细胞于移植后 2~4 天即被受体 T 细胞所替代,浸润至移植肝内的细胞有强烈抗供体细胞毒性 T 细胞(CTL)活性,但移植后 14 天 CTL 活性降低。并发现移植后 4、7 和 14 天移植肝内有非实质性细胞凋亡。在 IL-2 诱导的急性排斥中细胞凋亡在肝移植免疫耐受时有明显作用,但与急性排斥关系不大;CTL 活性则与其相反,提示 CTL 凋亡增加可能导致肝移植免疫耐受的发生。Afford 等[10]发现人肝移植发生慢性排斥时胆管区无凋亡细胞而静脉周围肝细胞破坏区有大量凋亡细胞,提示细胞凋亡在慢性排斥反应时胆管消失综合征(vanishing bile duct syndrome,VBDS)的发生中无明显作用,但可能是引起静脉周围肝细胞破坏的主要原因。并且在急性肝移植排斥时浸润的单核细胞中也观察到凋亡细胞。但 Afford[11]报道慢性排斥时,胆管内皮细胞 CD40 活化导致 T 细胞浸润并表达 FasL,引起 Fas 介导的细胞凋亡,造成移植肝内胆管的丢失。

上述研究显示在同种肝移植急性或慢性排斥时均有细胞凋亡。Krams 等[12]进一步用 RT-PCR 发现人正常肝细胞表达大量可溶性 Fas,这种 Fas 表达也存在于无排斥反应的移植肝细胞中;但在排斥的移植肝活检标本中仅 50% 表达,其表达水平在同种异体肝移植病人中也有降低。肝细胞产生的可溶性 Fas 能特异性介导细胞凋亡,故认为这可能是发生排斥时肝细胞凋亡增多的原因。

最近 Yamaguchi 等[13]发现大鼠同种肝移植发生排斥时受体胸腺皮质的凋亡细胞增多,受体血清中 TNF-β 显著升高。进一步给受体腹腔内注射重组人 TNF-β 可诱导胸腺细胞凋亡,而腹腔内注射兔抗人 TNF-β 多抗及重组人 IL-10 则可使未治疗的肝移植受体胸腺细胞凋亡受到抑制,但供体特异性输血诱导的免疫无应答的同种异体及同系肝移植受体则无胸腺细胞凋亡。这是首次报道同种异体肝移植排斥时 TNF-β 可诱导胸腺细胞凋亡,但在供体特异性输血诱导的免疫无应答中则无此作用。该研究也显示肝移植排斥时可通过胸腺细胞凋亡而影响免疫系统的功能,其潜在作用值得深入研究。

1.3 肾移植与细胞凋亡

Sharma 等[14]分析 8 例人肾移植活检标本发现肾内 FasL mRNA 在急性排斥时表达升高;而在慢性排斥和无排斥的标本中,其表达降低或未检出。说明 FasL 介导的细胞凋亡在急性肾移植排斥中起作用,但与慢性排斥的关系不大。也有报道急性肾移植排斥时存在肾小管上皮细胞凋亡[15]。但是 Laine 等[16]却发现肾移植慢性排斥中的肾小管上皮存在细胞凋亡。该作者对 20 例小儿肾移植病人在移植后 1.5 年、3 年和 5 年的随访性肾活检中发现 12 例有慢性排斥反应,8 例正常。发现慢性肾移植排斥时近端和远端肾小管上皮细胞凋亡明显,而肾小球及间质内并无细胞凋亡。说明细胞凋亡可能在急性和慢性肾移植排斥中均有一定作用。

1.4 小肠移植与细胞凋亡

在大鼠小肠移植中,发现同种移植物术后第 3 天起肠粘膜细胞凋亡显著增高,至术后第 7 天因严重排斥而使移植肠粘膜上皮全部脱落,认为细胞凋亡是小肠移植急性排斥反应早期、特异、敏感的诊断指标[17]。Lee 等[18]分析了 62 例小肠移植病人的粘膜活检标本,发现急性排斥时的主要表现为腺管损伤,粘膜内单核细胞浸润及腺管细胞凋亡增加并形成斑点,在晚期可发展为粘膜溃疡。移植 100 天以后发生的急性排斥反应与早期排斥相比,细胞浸润减少,而细胞凋亡增多。这些特点与临床表现有良好的相关性(假阳性 9%,假阴性 26%),提示细胞凋亡在小肠移植的急性排斥反应中起重要作用。

2 缺血再灌注损伤对细胞凋亡的影响

所有实质器官移植均会遇到缺血再灌注损伤,它延迟移植器官出现功能的时间,并使移植物发生急性或慢性排斥反应的机会增加。移植器官再灌注时释放的反应性氧离子可引起移植物缺血再灌注损伤,包括脂质过氧化所致细胞膜损伤,多形核白细胞浸润,以及 MHC 抗原和粘附分子表达增加,从而诱导细胞凋亡。Schumer 等[19]发现钳夹大鼠肾动脉引起短暂完全肾缺血可启动再灌注时肾小管细胞凋亡,最早见于再灌注后 12h,至 24h 细胞凋亡数量显著增加,说明凋亡是热缺血及随后的再灌注损伤所致。有报道人肾移植再灌注后细胞凋亡数量增加与移植肾出现功能的时间延迟有关。Burns 等[20]报道尸体供肾再灌注后细胞凋亡数量比再灌注前显著增加,而活体供肾再灌注前后细胞凋亡无明显差异。

维普资讯 http://www.cqvip.com

且再灌注后尸体供肾细胞凋亡比活体供肾显著增多,说明细胞凋亡主要存在于尸体供肾缺血再灌注损伤。脑死亡可引起粘附分子活化、淋巴细胞浸润至肝细胞,导致肝细胞凋亡,说明尸体供肝再灌注后肝细胞凋亡增加[21]。此外,人肝移植再灌注后及心肌梗塞病人经抗凝治疗使冠状动脉再通后也存在细胞凋亡。

这些研究提示细胞凋亡是缺血再灌注损伤的普通现象。它对移植器官的损伤与移植物的存活及功能衰竭的影响值得进一步研究。

3 FasL-Fas 介导的细胞凋亡在移植排斥和免疫耐受中的发生机理

3.1 FasL-Fas 在免疫特权部位的作用

Fas(又称之为 APO/CD95)和 FasL 在淋巴细胞等多种细胞中均有表达,淋巴细胞活化后其表达水平也上调。众所周知,角膜和睾丸移植能长期存活,且移植到眼的前房和脑部的同种异体移植物可自发产生免疫耐受而免遭排斥,这些部位称之为免疫特权部位(immune privileged site)。最近研究显示其发生机理与 FasL-Fas 介导的细胞凋亡有关。Stuart 等[22]报道在同种小鼠角膜移植模型中,表达 FasL 的角膜有 45%存活,而不表达 FasL 的角膜或虽然角膜正常表达 FasL 但移植到不表达 Fas 的小鼠均 100%发生排斥反应。组织学检查显示表达 FasL 的角膜中含单核细胞并有细胞凋亡,被排斥的不表达 FasL 的角膜中含许多炎症细胞而不伴有细胞凋亡。Bellgrau 等[23]报道表达功能性 FasL 的小鼠睾丸移植到同种小鼠肾被膜下可长期存活,而不表达功能性 FasL 的突变 gld 小鼠睾丸则被排斥,进一步发现 FasL 在睾丸中的表达可诱导被移植抗原激活的表达 Fas 受体的 T 细胞凋亡。

3.2 细胞凋亡引起移植排斥或免疫耐受的机理

根据以上研究,Vaux[24]提出了 FasL-Fas 介导的细胞凋亡引起移植物排斥或免疫耐受的发生机理。认为正常 T 细胞上的 T 细胞受体(TCR)与含 MHC 的外来抗原结合后使 T 细胞在识别外来组织时被激活,从而杀伤靶细胞引起移植排斥;但表达 FasL 的移植物则通过与表达 Fas 的 T 细胞结合并使其凋亡而保护移植物不被排斥。Kabelitz[25]进一步指出,表达 FasL 的 T 细胞浸润至同种移植物并通过使表达 Fas 的移植物细胞凋亡而破坏移植物,产生移植排斥;如果移植物持续表达 FasL,则使浸润至移植物中的表达 Fas 的 T 细胞凋亡,引起免疫耐受。

进一步在心脏、肝脏的肾脏移植的实验研究中也支持此假说[7,9,14,25],因此有作者认为在移植物中诱导产生 FasL 可使其获得免疫特权,从而免遭排斥[23]。但是 Yagita 等[26]把表达人 FasL cDNA 的仓鼠肾成纤维细胞株移植到缺失 T 细胞的的裸鼠,发现仓鼠正常的肾成纤维细胞在裸鼠中生长良好,而经基因转染表达人 FasL 的细胞则完全被排斥;经用抗 FasL 单抗治疗后可逆转排斥反应。Allison 等[27]建立表达小鼠 FasL 的胰岛 β 细胞的转基因小鼠,然后把其胎胰移植到同种异体小鼠的肾被膜下,结果发现 FasL 的表达并不能防止排斥反应。这些研究均不支持移植物表达 FasL 可保护移植物免遭排斥,说明此假说还不够完善,或者还存在其它的机制,尚需进一步研究。

4 结 语

虽然细胞凋亡在生物学、免疫学等其他学科的研究较深入,但在移植免疫学方面的研究中才起步。现有报道对细胞凋亡在移植排斥和免疫耐受等方面的意见并不一致,而且大多数报道只是粗糙地观察有无凋亡,并没有分清楚是移植脏器实质细胞凋亡,还是浸润至移植物的受体免疫细胞凋亡。因此,现在断言细胞凋亡在器官移植中起何种作用还为时过早。深信随着研究的深入。将会揭示细胞凋亡与器官移植的关系,为器官移植的研究和临床实践开辟新的领域。

参 考 文 献

[1] Szabolcs M, Michler RE, Yang X, et al. Apoptosis of cardiac myocytes during cardiac allograft rejection: relation to induction of nitric oxide synthase [J]. Circulation, 1996; 94: 1665-1673.

[2] 钟红兴,韩 辉,章咏裳. 大鼠移植心脏的细胞凋亡及其与急性排斥反应的关系[J]. 中华器官移植杂志,2000; 21: 154-155.

[3] Bergese SD, Klenotic SM, Wakely ME, et al. Apoptosis in murine cardiac grafts[J]. Transplantation, 1997; 63: 320-325.

维普资讯 http://www.cqvip.com

[4] White WL, Zhang YL, Shelby J, et al. Myocardial apoptosis in a heterotopic murine heart transplantation model of chronic rejection and graft vasculopathy [J]. J Heart Lung Transplant, 1997;16:250 - 255.

[5] Laguens RP, Meckert PM, Martino JS, et al. Identification of programmed cell death(apoptosis) in situ by means of specific labeling of nuclear DNA fragments in heart biopsy samples during acute rejection episodes [J]. J Heart Lung Transplant,1996; 15:911 - 914.

[6] Szabolcs M, Ravalli S, Minanov O, et al. Apoptosis and increased expression of inducible nitric oxide synthase in human allograft rejection [J]. Transplantation, 1998;65:804 - 812.

[7] Josien R, Muischen M, Gilbert E, et al. Fas ligand, tumor necrosis factor - 2 allograft expression and apoptosis during alograft rejection and tolerance [J]. Transplantation, 1998;66: 887 - 893.

[8] Krams SM, Egawa H, Quinn MB, et al. Apoptosis as a mechanism of cell death in liver allograft rejection [J]. Transplantation, 1995;59:621 - 625.

[9] Qian S, Lu L, Fu F, et al. Apoptosis within spontaneously accepted mouse liver allografts: evidence for deletion of cytotoxic T cells and implications for tolerance induction [J]. J Immunol, 1997;158:4654 - 4661.

[10] Afford SC, Hubscher S, Strain AJ, et al. Apoptosis in the human liver during allograft rejection and end - stage liver disease [J]. J Pathol, 1995;176:373 - 380.

[11] Afford SC, Rhandawa S, Yooster J, et al. CD40 induced Fas - L expression may contribute to the loss of bile ducts by apoptosis in chronic allograft rejection[J]. Transplantation, 2000;69(Sup 8):S 112.

[12] Krams SM, Fox CK, Beatty PR, et al. Human hepatocytes produce an isoform of Fas that inhibits apoptosis [J]. Tansplantation, 1998;65:713 - 721.

[13] Yaguchi Y, Okabe K, Miyanari N, et al. Tumor necrosis factor - β is associated with thymic apoptosis during acute rejection [J]. Transplantation, 1998;66:894 - 902.

[14] Sharma VK, Bologa RM, Li B, et al. Molecular executors of cell death - differential intrarenal expression of Fas Ligand, Fas, granzyme B, and perforin during acute and/or chronic rejection of human renal allografts [J]. Transplantation, 1996;62:1860 - 1866.

[15] Ito H, Kasagi N, Shomori K, et al. Apoptosis in the human allografted kidney: analysis by terminal deoxynucleotidyl transferase - mediated dUTP - biotin nick end labeling [J]. Transplantation, 1995; 60:794 - 799.

[16] Laine J, Etelaemaeki P, Holmberg C, et al. Apoptotic cell death in human chronic renal allografi rejection [J]. Transplantation, 1997;63:101 - 105.

[17] 李元新,李 宁,吴 波,等.小肠移植排斥反应期移植肠粘膜细胞调亡的研究[J]. 中华外科杂志,1999;37:372 - 374.

[18] Lee RG, Nakamura K, Tsamandas AC, et al. Pathology of human intestinal transplantation [J]. Gastroenterology, 1996;110:1820 - 1834.

[19] Schumer M, Colomber MC, Sawczuk IS, et al. Morphologic, biochemical, and molecular evidence of renal ischemia [J]. Am J Pathol, 1992;140:831 - 838.

[20] Burns AT, Davies DR, Mclaren AJ, et al. Apoptosis in ischemia/reperfusion injury of human renal allografts [J]. Transplantation, 1998;66:872 - 876.

[21] Van der Hoeven JAB, de vos P, Molema I, et al. Brain death death induces tissue activation and apoptosis in cadaveric donor livers [J]. Transplantation,2000;69(Sup8):S198.

[22] Stuart PM, Griffith TS, Usui N, et al. CD95 ligand (FasL) - iduced apoptosis is necessary for corneal allograft survival[J]. J Clin Invest, 1997;99:396 - 402.

[23] Bellgrau D, Gold D, Selawry H, et al. A role for CD95 ligand in preventing graft rejection[J]. Nature, 1995; 377:630 - 632.

[24] Vaux DL. Ways and rejection[J]. Nature, 1995; 377: 576 - 577.

[25] Kabelitz D. Apoptosis, graft rejection, and transplantation tolerance[J]. Transplantation, 1998;65:869 - 875.

[26] Yagita H, Seino K, Kayagaki N, et al. CD95 Ligand in graft rejection[J]. Nature, 1996;379:682.

[27] Allison J, Georgiou HM, Strasser A, et al. Transgenic expression of CD95 ligand on islet β cells induces a granulocytic infiltration but does not confer immune privilege upon islet allografts[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1997;94:3943 - 3947.