

泌尿外科丛书

肾移植进展



主编 郭应禄

北京医科大学出版社

泌尿外科丛书

肾移植进展

主 编 郭应禄
主编助理 梁丽莉

北京医科大学出版社

SHEN YIZHI JINZHAN

图书在版编目 (CIP) 数据

肾移植进展/郭应禄主编. —北京: 北京医科大学出版社, 2002.8

(泌尿外科丛书)

ISBN 7-81071-317-5

I. 肾… II. 郭… III. 肾-移植术(医学)-研究 IV. R699.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 053850 号

北京医科大学出版社出版发行

(100083 北京市海淀区学院路 38 号 北京大学医学部院内)

责任编辑: 白玲 朱文玉

责任校对: 翁晓军

责任印制: 郭桂兰

莱芜市圣龙印务书刊有限责任公司印刷 新华书店经销

开本: 787mm × 1092mm 1/16 印张: 15.75 字数: 394 千字
2002 年 9 月第 1 版 2002 年 9 月第 1 次印刷 印数: 1-3000 册

定价: 34.00 元

版权所有 不得翻印

编者名单

(按文中出现顺序排列)

- 郭应禄 北京大学泌尿外科研究所
杨建林 北京大学泌尿外科研究所
鲍镇美 北京中日友好医院
马腾骧 天津医科大学第二医院
谭建民 上海市第一人民医院
于立新 广州第一军医大学南方医院
韩文科 北京大学泌尿外科研究所
唐孝达 上海市第一人民医院
张元芳 上海复旦大学华山医院
卢一平 四川大学第一附属医院
杨宇如 四川大学第一附属医院
Walter Land 德国慕尼黑大学 Grosshadern 移植中心
钟震 加拿大西安大略省大学器官移植中心
邢念增 首都医科大学附属朝阳医院
Mattbew D Griffin Department of Internal Medicine
Division of Nephrology, Mayo Clinical Foundation
苑学礼 美国哈佛大学医学院

前 言

随着科学技术的进展，特别是新免疫抑制剂的不断用于临床，肾移植成功率有很大提高，已成为挽救慢性肾功能衰竭患者的有效手段，在各地广泛开展并取得较好成绩。

肾移植工作在今后所面临的课题有①影响器官移植长期存活的主要因素仍是免疫反应。目前所采用的免疫抑制方法属非特异性免疫抑制。它是通过降低患者全身免疫力而使移植器官延长存活期。这样就会带来许多不良反应，如易感染、易患肿瘤等。因此国内外科学家集中力量研究免疫耐受等特异免疫抑制措施，以消除对全身的不良影响，但距临床应用尚需时日；②随着各地肾移植工作的顺利开展，供肾缺乏已日益严重。现在虽然有转基因动物问世，希望解决器官供应，但尚有很多难于解决的问题。当然异种移植更加困难，而利用组织工程制造新器官也非近期可以完成。为此，选择恰当的用药方案以争取好的移植效果仍不失为主要工作。我们愿意围绕这些问题讨论各家的经验，以增加思路，提高移植效果，促进医学发展。



2002年8月

目 录

肾移植概论	(1)
肾移植免疫现状	(11)
先天性免疫	(19)
肾移植免疫学基础中有关临床的三个问题	(24)
器官移植组织配型进展	(41)
肾移植受者选择及手术步骤	(89)
移植肾急性排斥反应	(95)
移植肾慢性排斥反应	(104)
慢性移植物失功	(115)
异种器官移植的研究现状	(123)
免疫抑制剂的作用机制及其临床应用	(134)
同种异体移植物的非免疫性损伤： 天然免疫的一种形式	(172)
异种移植及免疫耐受——器官移植的未来	(176)
在选择性病人中使用以 MMF 为基础的无肾毒性的 免疫抑制治疗 ——一项旨在提高移植肾长期存活率的研究	(183)
肾移植免疫抑制药物的现状	(188)
器官移植	(197)

肾移植概论

郭应禄 杨建林

移植历史回顾

据《列子·汤问篇》记载，早在公元前5世纪，中国神医扁鹊就为两名成年男子成功地进行了换心术。直到1950年由美国Lawler报道了首例人类同种异体肾移植术，当时移植肾存活大于1个月。1953年美国的Hume和法国Michon相继报道移植肾脏存活大于1个月。当时由于对移植免疫排斥反应认识不够，移植肾存活时间很短。

1954年美国的Merril和Murray报道了在同卵双胞胎之间实施了世界上首例成功的肾移植术，移植肾得到了长期存活。由此，人们更加认识到免疫排斥反应是影响移植物存活的关键。后来Murray和世界上首例成功行骨髓移植术的Thomas教授同获1990年诺贝尔医学奖。

1960年吴阶平教授在北大医院行国内首例尸体肾移植术，术后移植肾均排尿，由于缺乏有效的免疫抑制剂，移植肾存活近1个月失功。1972年广州中山医院成功完成我国第一例亲属肾移植，获长期存活。1974年我所受周总理委托组团赴加拿大考察，回国后成功地开展了大量的肾移植工作，并撰写了国内首部肾移植专著。与此同时，国内许多单位相继开展了肾移植工作。1975年复旦大学中山医院尸体肾移植获得长期存活。

美国是世界上开展器官移植最好的国家之一。根据美国器官分配协会报告，到1998年底，全球共实施同种异体肾移植447 182例次，1年移植肾存活率达90%，尸体供肾最长存活33年，亲属供肾最长存活36年。根据我国器官移植登记处统计结果，截止到2000年，我国共实施肾移植34 832例项，肝移植510例。

随着免疫学、分子生物学、组织工程学、药理学等学科的进步，全球尸体肾移植半数存活时间已延长至13.8年，而活体供肾移植肾半数存活时间为21.6年。20世纪最伟大的贡献之一就是器官移植作为终末器官功能衰竭成功的替代治疗方法之一。

肾移植在同种移植中的重要地位

开展肾移植的必要性和有利条件是：①肾是维持生命的必要器官，危及生命的肾脏疾病发病率很高，据统计每年每百万人口新发生的慢性肾功能衰竭患者达30~100人，这个数字是相当可观的。因此，为了挽救这类患者的生命，给肾移植临床研究提出了迫切的要求；②肾移植技术困难较易克服。只需接通肾动脉、静脉和输尿管即可，而肾血管的管径较粗，吻合技术易于掌握；③肾功能易于观测。移植肾恢复血运后即可从患者的尿量及其成分来了解肾功能的状况，进一步的功能测定也较容易；④人体有两个肾脏，有一个肾即

可维持正常生命。所以在器官移植发展至今日水平的情况下，近亲属献肾以挽救病人生命已是切实可行的事，这是移植其他器官所不具备的又一有利因素；因为亲属供肝移植操作难度较大，而其他活体器官移植无法共享半个器官，所以现在国内外已开展了大量的亲属供肾移植和夫妻供肾移植，移植效果较好。⑤尿毒症病人的免疫功能受到抑制，使移植肾存活期相对延长。尽管肝是免疫特惠器官，然而肝移植的存活率和数量远比不上肾移植。

由于具备上述有利因素，因此，在临床器官移植中，肾移植开展得多，效果也较好。同时，同种肾移植研究中所面临的免疫问题，与其他同种组织和器官移植有共性。器官和组织移植的长期成活规律，虽然可以从不同组织或器官移植研究中突破，但从肾移植研究的有利条件来看，肾移植在同种移植中具有特殊的重要地位，它很可能是突破同种移植成活规律的便利途径。

免疫抑制剂的进展

一、早期免疫抑制剂

最早用于免疫抑制的药物是类固醇。1951年 Billingham 等证实可的松能延长兔移植皮肤的存活时间^[1]。Schwartz 和 Dameshek 于 1959 年发现并首先使用 6-巯基嘌呤及其衍生物硫唑嘌呤来控制免疫反应，是早期控制免疫反应的一个里程碑^[2]。1964 年联合使用类固醇和硫唑嘌呤是最初的免疫抑制方案^[3]。

二、免疫抑制剂的近期发展

1972 年 Borel 发现了环孢素 A (cyclosporine, CsA)^[4]。Calne 于 1978 年首先将 CsA 用于临床，使免疫抑制剂发生了革命性的变化^[5]。CsA 降低了肾、肝和心脏移植急性排斥反应的发生率，从而延长了病人和移植物的存活时间。使用单克隆抗体，如 OKT3 和鼠源性抗 CD3 受体单克隆抗体，进一步提高了控制排斥反应的疗效。CsA 的副作用，尤其是神经毒性作用，驱使人们去寻找新的毒性较低的免疫抑制药物。1984 年 Goto 等发现一种免疫抑制剂：普乐可复 (tacrolimus, FK506)，其免疫抑制特性与 CsA 相似^[6]。1989 年首次报道了 FK506 成功地治疗了肝移植术后排斥反应^[7]。

从此，许多新的免疫抑制剂，包括咪唑立宾 (mizoribine)、脱氧精胍菌素 (deoxyspergualin)、骁悉 (mycophenolate mofetil, MMF)、雷帕霉素 (rapamycin, Sirolimus)、Brequinar (BQR)、Leflunomide (LFM) 已进入移植领域。随着对排斥反应和免疫耐受基础免疫机制的不断认识，免疫抑制剂得到了较快的发展。目前研究的趋势是要求使用非中毒剂量的免疫抑制剂 CsA 和 FK506，撤除类固醇，不用抗 T 细胞抗体也不增加排斥反应的发生率^[8]，此观点还未被普遍接受。下一步的研究目标包括使用免疫调节药物使受者接受移植物和介导免疫耐受。

回顾肾移植的发展历程，各种免疫抑制剂的发现已成为其各个阶段的里程碑。特殊的历史时代均用当时所用的免疫抑制剂进行命名。第一个时代临床成功率很低，是一段以大量基础和临床研究为主的时期。在这一时代，当无免疫障碍的同卵双生子之间肾移植获得成功时，手术技巧方面的难题得到研究和发展。

第二个时代，即硫唑嘌呤时代，开始于20世纪60年代早期。当时 Roy Calne 对 Hitchings 和 Elion 合成的免疫抑制剂进行了研究。硫唑嘌呤的发现使肾移植的范围扩展到活体非同卵双生供体肾移植和尸体肾移植，并获得一定的成功。这一时代的特点是出现了大量的临床排斥现象，尸体移植肾的1年存活率接近50%。随着新药应用经验的增加，肾移植的死亡率逐步降低。

神经钙调素抑制剂（最早为 CsA）的发现宣布了第三个时代的到来。这一时代中，急性排斥率降低了一半，明显提高了移植肾的早期存活率。在 Borel、Calne 和 White 发现 CsA 并将其作为一种主要的临床免疫抑制剂后不久，一种针对 CD3 的单克隆抗体也被成功地用于治疗急性排斥反应。最近，随着一些新的免疫抑制剂的发现，不久的将来有望完全消除肾移植临床中明显的急性排斥反应。这些新的免疫抑制剂与神经钙调素抑制剂（免疫抑制剂的代表）联合应用，不仅提高了移植肾的早期存活率，同时也使远期效果得到了稳步快速的提高。

在最近一篇文章中，Hariharan 等应用“移植肾半寿期”（半数存活期）一词来描述肾移植的疗效，他认为肾移植的长期疗效已获得稳步提高，甚至可以与移植肾的1年存活率相匹配。通过分析器官分享联合网络数据库中收集的1988~1996年间的近94000例肾移植病例资料显示，排斥率由46%降至24%，同种异体尸体移植肾的半衰期由7.9年延长至13.8年，而活体肾移植后移植肾的半衰期则由12.7年升至21.6年。此外，Hariharan 等还明确指出，任何能够减少急性和有临床表现的肾移植排斥反应的手段均对远期疗效有益。仔细分析半衰期延长的速度后表明，随着骁悉、抗 CD25 单克隆抗体、IL-2R 抗体等一些新药的不断发现，肾移植的长期疗效将得到持续改善。

最近，来自温尼伯湖大学的 Rush 等进行了富有开拓性的研究，他们发现亚临床排斥很重要，而且与同种异体移植肾的慢性肾病和损伤有相关性，这为新型免疫抑制剂的开发提供了一种附加的基本原理，也证实了亚临床排斥和长期疗效之间关系的重要性。另外，还有两个固有的目的也同样促进了大量研究的开展：即克服异种移植的免疫学障碍和发展真正的免疫耐受。

（一）观念的转变

免疫抑制的未来将首先从肾移植临床实践中观念的转变开始。在肾移植的前三个时代中，占统治地位的免疫抑制观念只有一个，称之为免疫抑制的添加法。每当有一种新药被发现并且证实临床有效，就将其与已在使用的药物联合用于病人，或者用其取代其中的一种。这种观念所导致的必然结果是，使移植界一直占统治地位的固定的标准免疫抑制疗法逐渐演变成各个中心各自采用多种不同的方案，这是因为移植组可以从20种不同的方案中挑选自己需要的免疫抑制方案。目前正在研究或已经应用的免疫抑制方案中，最重要的观念变化之一是方案趋向于更加简化，仅极少数既能最大限度预防急性排斥反应而副作用又最小的药物才被选用，对不同的病人选用各具特色的治疗方案，这使以往对绝大多数肾移植受者均采用统一标准免疫抑制方案的旧观点正在逐渐被淘汰。

有关停用激素的故事与临床移植一样历史悠久。每当有一种新的免疫抑制剂被应用于临床，人们就试图减量或停止使用激素。在过去的研究结果显示，停用激素可以有效地避免一些与激素有关的副作用，而仅有少数病人出现与停用激素相关的短暂的急性排斥。此外，有证据显示使用激素可以降低移植肾的长期存活率，如在有效预防急性排斥的情况下

停用激素，一般在停用激素后3~5年才出现排斥。最近美国国立卫生研究院赞助了一项有关停用激素方面的研究，在早期未出现急性排斥的病人所应用的多药物方案中加入骁悉以便停用甾体，结果在停用甾体组出现了难以接受的高急性排斥率，最后受到美国安全监测委员会的否决。此后，一项关于不用甾体或早期停用甾体的研究经验获得短期成功，但长期疗效尚待确定。一些人认为，免疫抑制未来将包括一个无甾体的新时代。

尽管移植肾的早期和晚期效果均明显得益于神经钙调素抑制剂这一具有划时代意义的药物的应用，但是人们却已经在尽量减少或不用这类药物，而通过应用更新的方案达到同样令人满意的效果。有人反复强调，尽管应用神经钙调素抑制剂后移植肾的短期生存率得到显著提高，但长期疗效却远没有达到人们的期望。很明显，这类药的两个典型代表，即CsA和普乐可复，均有明显的毒性作用，包括肾毒性、精神错乱、糖尿病、高脂血症、高钾血症、高尿酸血症和神经毒性等，通过最大限度地减少用药可以避免或减少这些副作用的发生。基于这些药物的毒性而限制剂量，已在动物试验的急性排斥预防取得了进步。一些人认为，这两种神经钙调素抑制剂类药物所引起的肾中毒以及由它们激活纤维蛋白生长因子所导致的组织学紊乱（也称慢性同种异体移植肾肾病），已经抵消了它们在降低急性排斥方面所起的正面作用。

Weir等和Huasso各自报告1组临床怀疑或经活检证实患有慢性同种异体移植肾肾病的病人，给予停用环孢素并加用骁悉的处理。两组病人均未出现急性排斥，而且病人肾功能、血清胆固醇水平和血压均得到改善。其中后一组病人的血浆 β 转化生长因子的水平降低。Grinyo给一组未发生急性排斥的病情稳定的肾移植受者应用包括环孢素、骁悉和强的松在内的三联药物方案，在减少环孢素用量后，病人的肾功能、血压和血清 β 转化生长因子水平均得到改善。Kasiske对霉酚时代前的1000多位病人停用环孢素实验进行多因素统计学分析，结果显示仅少部分病人出现与停用环孢素相关的短暂排斥，而且并不影响移植肾的短期生存率。他同时警告说，从研究结果中无法确定早期急性排斥率的升高是否会影响长期疗效。骁悉和雷帕霉素等新药的发现，使对有关能否停用神经钙调素抑制剂的假设能够继续研究下去。Vincente等试图应用新药以代替神经钙调素抑制剂。在一项多中心的、随机的前瞻性研究中，给98位移植肾受者应用抗CD25抗体作诱导治疗，另外用骁悉和强的松维持，方案中未用神经钙调素抑制剂，所有病人均随访1年。结果显示排斥率高达50%，是其他采用神经钙调素抑制剂联合方案的中心所报数据的5倍，令人无法接受。尽管如此，多种新药联合应用以取代神经钙调素抑制剂的方案仍有成功的希望。最近，Kahan应用雷帕霉素、骁悉和强的松联合方案，从而避免使用神经钙调素抑制剂，结果并无急性排斥发生。这为将来在抗体诱导后联合应用雷帕霉素、骁悉和强的松以取代环孢素和普乐可复的多中心研究提供了坚实的科学依据。

（二）干扰淋巴细胞激活的免疫抑制

作为标志肾移植发展史的里程碑，免疫抑制的研究已经走出了以往的陈旧模式，即先在大量体外试验中找到一种分子，该分子被证实能够有效抑制同种免疫反应，然后将其用于动物模型，最后才在临床中进行最后检测。随着我们对淋巴细胞激活和反应的分子路径的理解不断深入，另一个有关开发免疫抑制剂的新的思维模式的转变，将会决定移植免疫抑制的未来。我们将通过对同种反应的免疫生物学特征的理解，来研究各种通路的抑制，从而开发大量的免疫抑制剂。

Halloran 用 3 种信号来描述同种 T 淋巴细胞的激活, 这对于解释新的思维模式和讨论在不久的将来可能有用的临床免疫抑制策略是有帮助的着手点。简明地说, 第一个激活信号来自于对天然 T 淋巴细胞的同种抗原的识别, 该同种抗原使用了由 CD3 蛋白簇所提供的 T 细胞抗原受体和信号传导通路。第一信号的识别步骤涉及信号的制备, 以及直接作用于供者特异性抗原呈递细胞 (APCs) 的主要组织相容性复合物 (MHC) 或间接作用于受者 APCs 的受者 MHC。T 细胞激活最初的要点是第二信号, 是 T 细胞和 APC 之间通过被称作共同刺激分子的一系列配体 - 受体对所进行的抗原抗体相互反应。第二信号的制备既可以通过向无共刺激通路的非专门 APCs 提供同种抗原来进行, 也可以通过阻断这些通路来进行, 最终导致一种叫做 T 细胞克隆无能的免疫抑制状态, 此时尽管细胞仍然存在, 但既不能进入直接激活的细胞周期, 也无法在限定的时间内被抗原进一步激活。随着第一信号和第二信号的制备, T 细胞以几组新分子复合形式进入细胞周期的 G_{1A} 和 G_{1B} 期, 共同为创建淋巴细胞激活所需要的第三信号提供必要的结构, 这对于活性 T 细胞效应细胞的同源扩增是绝对必要的, 并最终引起同种移植物排斥反应。在这些新分子中, 很多是构成具有高亲和力的生长因子受体的元素, 而且在静止状态的 T 细胞中并无表达; 其他的分子则为生长因子。第三信号源于特殊的生长因子和细胞因子之间的相互作用, 它们的细胞表面受体刺激了被称作细胞周期蛋白的调整分子并使其激活, 使 T 细胞的 DNA 倍增, 并按细胞中期的结构形式排列和分裂染色体。最近, Turka 和 Strom 的实验室证实, 一种通过凋亡机制来平衡淋巴细胞抑制的信号也可能起源于第三信号, 这对于未来免疫抑制剂的研制具有重要的意义。

(三) 共刺激通路的抑制

目前, 免疫生物学的基本程序已经用于免疫抑制的临床策略研究, 而且可能成为新治疗方法的一部分。该程序支持几种阻断共刺激通路的策略以及隐喻 T 细胞激活的第二信号, 并且以建立抗原特异性 T 细胞克隆无能为目标。第一个策略将移植免疫抑制中单克隆抗体的应用范围扩展到可以阻断共同刺激的配体 - 受体对任何一方的抗体。最近发现, 一种能够直接对抗 CD40-CD40 配体系统的抗体抗 CD154, 可以延长灵长类动物模型的同种异体移植物的生存。第一代抗 CD154 的人体初步试验已经开始, 但由于出现了无法预料的凝血障碍而被终止。根据可靠的免疫学理论和该类新抗体应用于灵长类所产生的极佳效果, 也许使用最近开发的基因工程分子来使抗体完全人源化, 预计该策略会在人体研究中使用, 以确定导致凝血酶原并发症的罪魁祸首是否是原始单克隆抗体中的异种成分。

第二个阻断共刺激分子对的策略同样具有吸引力。第二个策略以共刺激分子对 B7-CD28 为靶目标, 将一种天然配体 CTLA4 与 B7 分子整合成为一种叫做 CTLA4-Ig 的融合蛋白。该方法已经在 Turka 和 Sayegh 的实验室中通过动物模型的器官移植获得实质性的成功。这些试剂不久将在美国接受人体试验。关于来自共同通路的信号以及它们的阻断作用方面的知识目前尚不清楚, 而这将会推动临床研究持续进行下去。将来, 以这些系统为靶目标的试剂将极有可能成为免疫抑制领域的一种常规药物。

(四) 抗原特异性信号的阻断

在提供第一信号的供者-受者相互作用过程的起始阶段, 启动 T 细胞激活的步骤很容易被取消。Krensky 等发现了一种免疫抑制策略, 根据 MHC 的信息区域序列而专门合成的一段肽可能具有免疫调节性, 其中信息区域的序列与 I 类、II 类分子的细胞外特殊结构域

相对应。来自 I 类 MHC 的一小段肽序列被证实能够抑制 T 细胞的激活，据此开发了一种新的临床制剂——Allotrap (SangStat Medical, Fremont, CA)，该药物在灵长类动物模型的心脏移植中有作用效果。Krensky 等的实验室拥有一系列这类具有免疫调节作用的肽，而且其中有一些也许比 Allotrap 更具魅力。不管这种特殊的制剂目前是否有效，但是有一点是肯定的，即含有这种肽的免疫抑制剂将有可能构建不远将来的移植科学。

(五) 新免疫抑制途径

免疫抑制的未来将不仅是 T 细胞激活途径被阻断的结果。免疫抑制剂的发展将是革命性的，新的作用机制与淋巴细胞激活信号无关。

使用这种新途径的免疫抑制分子已经研制并进行临床试验。一种这类的新分子可改变淋巴细胞定居或转移途径。FTY720 是从真菌 *Ischaria sinclairii* 分离出的一种合成嗜热菌杀酵母素类似物，在动物模型中是一种有效的免疫抑制分子，可减少约 50% 的周围淋巴细胞，抑制淋巴细胞向炎症组织和移植物的运动，同时增加肠道和 Peyer 结节的淋巴细胞。人类的单剂量和多剂量试验、1 期试验、剂量分布试验最近已经结束，我们更为乐观的是在不久的将来这种革命性的方法将能够试用于临床，成为新药的一部分，并为临床医生使用。

虽然在一定范围内我们了解器官移植的免疫抑制结构类型，但未来的发展只会受到我们对免疫学的了解和我们想象力的限制。

组织基因配型的进展

1958 年 Dausset 发现了人类第一个白细胞抗原 (human leucocyte antigen, HLA)。血清学定义的 HLA I 类抗原包括 HLA-A、B、C 三个位点。HLA II 类主要包括 HLA-Dr、HLA-D、HLA-DQ、HLA-DP 等位点。HLA-I 抗原主要对移植肾长期存活有影响；HLA-II 类抗原对移植肾长期和短期存活均有影响。一般认为 HLA 位点的重要性依次为 B、Dr、A。HLA 分型最早采用血清法。1964 年 Bain 等发现混合淋巴细胞反应后，很快被用于 HLA 分型，该方法又称细胞学方法。后来免疫荧光技术也用于检测 HLA 抗体。现代分子生物学技术为 HLA 分型提供了较为准确的手段，同时也为研究 HLA 基因多态性提供了快速、准确、可靠的方法。DNA 分型方法包括：PCR-RFLP、PCR-SSO、PCR-SSCP、PCR-SSP 等方法。

氨基酸残基配型的思路依据 HLA I 类抗原的 HLA-A、B、C 三个位点具有十分相似结构，其氨基酸序列上的许多位点具有完全相同的氨基酸残基。所以氨基酸残基序列的多态性，是产生同种异体抗体的免疫原性抗原决定簇的关键成分。

Duquesnoy 最近为高敏病人提供了潜在供体的替代筛选方法，并提出了氨基酸三联体多态性，并在氨基酸三联体水平上确定 HLA 的相容性。HLA-Matchmaker 通过 HLA I 类位点内及位点间的氨基酸三联体来评估供、受者之间的相容性^[9]。氨基酸残基配型方法显著地提高了供受者之间的可配率。HLA-Matchmaker 通过计算机程序可以对病人直接进行筛选。

免疫耐受的进展

自从移植早期以来,科学家和临床医生一直梦想着建立真正的免疫耐受,即无需免疫抑制的移植物存留。美国国立卫生研究院为了取得这一移植领域的桂冠,已经发展了多通道的免疫耐受网络,以便促进临床研究,尽快实现这一目标。在成人获得性免疫耐受的发展过程中,几乎所有的实验研究都涉及了免疫系统的初始处理,这是免疫调节法的几种形式,免疫耐受即由此而来。免疫调节的这一方法为开发崭新的免疫抑制策略提供了新的基本原理,这将改变以往有关免疫抑制的认识,并在将来起到非常重要的作用。淋巴细胞激活的3种信号模型至少对理解一种耐受发展的途径是有帮助的,即在将来用免疫抑制作为有效的调节手段。第三信号产生于生长因子的信号转变,它不仅为淋巴细胞激活提供阳性信号,而且还可通过凋亡对潜在的耐受发展提供信号。Turka和Strom的实验室所作的一系列有趣的动物实验提示,这样的条件免疫抑制后的移植物存活时间延长是完整的第一信号和第二信号通路下异型抗原捕获的结果。这样,一些生长因子被修饰,接着由于雷帕霉素作用于CD25抗体加入细胞周期刺激通路的阻断,细胞周期信号减弱。这一途径激活了凋亡过程,导致耐受。这一方式避免使用环孢素,在新条件下使用更新的制剂以达到长期希望的移植效果。

移植免疫专家的目标是成功地介导免疫耐受。尽管近十年这一研究领域很活跃,然而尚不能成功地取得免疫耐受。然而,最近从灵长类的几个实验结果取得了意想不到的结果。最令人鼓舞的是结合抗原识别,将抗体和所谓的第二信使相互作用,使T细胞发育为最佳的具有攻击反应的T细胞。首先通过CTLA4Ig的融合分子和CsA阻断抗原呈递细胞(APC)表面的B7分子,灵长类移植肾脏已取得了长期的存活,这个方案正在进行临床实验。然而,作为单一药物,抗CD40L抗体,不仅可以控制灵长类APC成熟,而且很可能提供给T细胞一个阴性信号,临床实验更有效。而且,与CTLA4Ig和CsA相比,FK506和类固醇可以对抗这种效应,在几个介导的耐受模型中已经观察到受体免疫系统激活状态转为无反应状态。的确,Kirk等最近报道一些灵长类动物,即使已经中断使用抗CD40L抗体,延长单一药物治疗仍然没有排斥反应发生。

虽然人们对Fas配体(FasL)保护早期同种异体移植物的研究结果令人满意。然而FasL持续表达,使大量中性粒细胞浸润导致局部组织破坏,限制了FasL通过移植物局部表达来预防同种移植物排斥反应的应用。

过去曾经认为微嵌合体可能会作为耐受与否的判断指标。现在看来不行。随着时间延长,供者来源胸腺内微嵌合现象消失,或用抗供者MHC I类抗原单克隆抗体清除供者细胞,耐受将终止。创造混合嵌合状态,可以在不需要对胸腺进行外科处理,即可获得稳定的胸腺耐受。

大量多次接受输血的病人移植肾存活率反而更高的原因可能是受者接触过大量的外源性HLA分子,这些外源性HLA分子与供肾共享至少一个HLA-D_r抗原。

由于啮齿类动物血管内皮细胞不表达MHC II类抗原,所以成功用于诱导啮齿类动物免疫耐受的方案不完全适合于人类。目前所有诱导免疫耐受的方法都依赖于灭活供者MHC/抗原肽复合物的T细胞。如果病毒抗原肽被供者MHC分子呈递时,受者会出现对病

毒感染的耐受。所以成功诱导特异性免疫耐受的研究任重而道远。

组织器官克隆

由于复制人与多莉羊的克隆技术路线一样，只有父系或母系一方的染色体和基因，缺少亲代另一方的染色体，因此这样克隆出来的人是否正常，谁也不知道。

由于尚未克隆出人来，世界上已经诞生的克隆动物，几乎都具有遗传缺陷。典型的例子是法国克隆的小牛玛格丽特，仅存活了1个多月便死亡。原因是玛格丽特患有严重的基因缺陷。我国的克隆羊元元在出生后不到两天死亡，也是因为严重的生理缺陷。美国克隆了一头白肢野牛，只存活了两天就死亡，原因也在于免疫系统有致命缺陷，无法抵御微生物的感染。

最近，英国克隆出多莉羊的罗斯林研究所为克隆动物缺陷找到了一些根据。认为克隆动物的免疫缺陷部分原因是某种蛋白质的基因上缺乏甲基。最近媒体报道美国成功地克隆出8头小牛，看上去非常健壮。

克隆人体器官比单纯的克隆人难度更大。克隆人体器官，则必须对人的胚胎定向发育过程有详尽的了解，干细胞定向分化的调控环节较复杂，北京大学干细胞研究中心已经成功地使胚胎干细胞定向分化成人体角膜。随后的研究将集中在研究为什么某些干细胞将定向分化为肝脏，而另外一些则分化为肾脏。其中的调控因子和调控环节有待于深入研究，以便能够控制发育过程。

异种移植

早在1902年Decastello实施了世界首例犬羊异种肾脏移植术，术后短时间排出少量尿液，但很快失败了。20世纪初，人类进行了多次异种肾移植的尝试，结果均未获得成功。60年代Reemtsma等将猩猩肾脏移植给人，这位病人存活了9个月。1964年Starzl报道了1例猩猩-人异种肾脏移植的临床经验。然而由于存在异种移植所特有的免疫学问题。无一例获得长期存活^[10]。直到现在人们仍然不能克服异种移植所面临的四大障碍：

1. 异种移植的超急性排斥反应。
2. 迟发性异种排斥反应。
3. 种间微生物传播疾病和异种移植内源性逆转录病毒复制的潜在性危险。
4. 供、受者之间补体调节蛋白、促红细胞生成素及凝血酶等的生物不相容性。

异种移植尽管面临许多问题难以解决，然而，针对每一个问题的研究不断有新的突破。英国科学家最早开始了转基因猪的研究，希望能够用猪器官代替人器官来解决器官短缺的问题。猪是人类的近亲，与人类生活较密切。华西医科大学已成功培育出纯种内猪，为将来研究异种移植提供了较好的实验动物。异种移植超急性排斥反应现在可以用种方法来预防。如：阻断抗体与Gal α ₁-Gal α ₃结合或去除受者的抗Gal α ₁-Gal α ₃抗体可以防超急性排斥反应的发生。预防超急性排斥反应的另一方法是抑制补体。用补体抑制剂眼毒蛇因子(CVF)可以有效地防止超急性排斥反应，但也容易招致机体防御机制的破坏。用表达人补体调节蛋白的转基因猪抑制补体介导的损伤效果更好。

目前已经在一些移植中心培育出转人 DAF 和 CD59 基因猪。异种移植种间微生物传播的疾病问题是目前人类最担心的问题。代谢上存在的种间不相容性问题亟待解决。随着同种异体器官移植成活率的不断提高,器官移植已经成为终末器官功能衰竭最有效的治疗方法。然而,器官短缺问题变得日益严重。于是异种移植成为当今移植界研究的热门问题。

肾脏保存的进展

1967年 Belzer 等首先提出了机械灌注保存肾脏的方法,灌注液以蛋白质为主^[13]。1969年 Collins 等采用低温灌注保存肾脏,也取得了较满意的效果。Halasz 和 Collins 在 1976年证实上述两种方法保存狗肾脏 48 小时的效果相同之后,临床肾移植医生更加广泛地采用简单低温灌注方法保存肾脏。简单低温保存液主要有:平衡液、Salks 液、Collins 液和改良 Ross 液。Fuduszka 等在 1978 年采用机械灌注方法可以保存人肾 72 小时。1984 年 Haberal 采用简单灌注保存联合机械灌注可以保存肾脏达 95 小时。1995 年 Gjertson 等对 38 057 例尸体肾移植病人进行回顾性研究证实机械灌注方法和简单灌注保存方法对移植肾 3 年存活率没有区别。

目前我国上海采用 HCA 液(改良 Ross 液),武汉同济使用 WMO-I 灌注液。

1988 年 Belzer 和 Southard 发明了 UW 液。UW 液中棉糖可以防止组织细胞渗透;羟乙基淀粉能防止细胞间隙扩大,维持胶体渗透压;磷酸盐能防止酸中毒;谷胱甘肽和别嘌呤醇可以防止缺血和对抗氧自由基损伤;腺苷是再灌注中合成 ATP 所必需的原料;镁是膜稳定剂。1992 年 Ploeg 等在一项前瞻性研究中将 695 例尸体肾分为两组:UW 组和 Euro-Collins 组,结果显示 UW 组术后血肌酐水平较 Euro-Collins 保存组下降更快,手术后透析率明显降低,1 年移植肾存活率较 Euro-Collins 组高 6%^[14]。动物试验显示 UW 液可以使肾脏安全保存 72 小时。

近年来,有人采用间断性常温洗的方法可以使移植肾保存时间延长到 6 天。间断性常温洗的方法是:先用白蛋白低温脉冲灌注肾脏 3 天后,改用常温血液灌注 3 小时,再恢复低温灌注保存 3 天。上述方法虽然显著地延长了肾脏的保存时间,但是要想长期冷冻保存肾脏仍需要克服内皮损伤这个难题。也有少数学者在灌注液中加入单克隆抗体以消灭过客白细胞,提高肾移植成功率。然而,在体外灌注单克隆抗体有无免疫活性仍有待于进一步研究。

参 考 文 献

1. Billingham RE, Krohn PL, Medawar PB. Effect of cortisone on survival of skin homografts in rabbits. *BMJ* 1951; 1:1157-1163
2. Schwartz R, Dameshek W. Drug-induced immunological tolerance. *Nature* 1959; 183:1682-1683
3. Calne RY. Renal transplantation in man: a review. *Br J Surg* 1964; 51:282-293
4. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, et al. Biological effects of cyclosporine A: a new antilymphocyte agent. *Agents Actions* 1976; 6:468-475
5. Calne RY, Rolles K, White DJG, et al. Cyclosporine A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet* 1978; II:1323-1327

6. Goto T, Kino T, Hantanaka H, et al. Discovery of FK506, a novel immunosuppressant isolated from *Streptomyces tsukubaensis*. *Transplant Proc* 1987; 19:4-8
7. Starzl TE, Todo S, Fung JJ, et al. FK506 for liver, kidney and pancreas transplantation. *Lancet* 1989; II:1000-1004
8. Morris RE. New immunosuppressive drugs. In: Busuttil RW, Klintmalm GB, eds. *Transplantation of the liver*. 1996; X (74) :760-786
9. Duquesnoy RJ and Marrari M. Determination of HLA-A, B residue mismatch acceptability for kidneys transplanted into highly sensitized patients: a report of a collaborative study conducted during the 12th International Histocompatibility Workshop. *Transplantation* 1997; 63 (12) :1743-1751
10. Starzl TE, Marchioro TL, Peters RL, et al. Renal heterotransplantation from baboon to man: Experience with 6 cases. *Transplantation* 1964; 2:752-758
11. Sharma A, Okabe JF, Birch P, et al. Reduction in the level of Gal(alpha,3)Gal in transgenic mice and pigs by the expression of an alpha(1,2) fucosyltransferase. *Proc Natl Acad USA* 1996;93:7190-7195
12. Sandrin MS, et al. Enzymatic remodelling of the carbohydrate surface of a xenogeneic cell substantially reduces human antibody binding and complement-mediated cytotoxicity. *Nature Medicine* 1995; 1:1261-1267
13. Belzer FO, Ashby BS, Dunphy JE. 24- and 72-hour preservation of canine kidneys. *Lancet* 1967; 2:536-539
14. Ploeg RJ, Goossens D, Mearns JR, et al. Successful 72-hour cold storage kidney preservation with UW solution. *Transplantation* 1988; 46:191-197
15. David N.R, John J, and Peter N. Subclinical acute rejection: Is it a cause of chronic rejection in renal transplantation? *Transplantation Reviews* 2000; 14 (3) :131 - 137
16. Helderman J H. On the horizon of immunosuppression. *Transplantation Reviews* 2000; 14 (4) :177-182
17. Luke PP and Jordan ML. Contemporary immunosuppression in transplantation. *Urol Clin North Am* 2001; 28 (4) :733-750

肾移植免疫现状

鲍镇美

肾移植近年来取得了重大的进展。早期的尸体肾移植效果欠佳，死亡率颇高。当时有些学者甚至考虑肾移植手术是否明智^[1]，经过四十余年的不懈努力，终于确立了肾移植是治疗终末期肾衰竭的有效手段。移植肾的存活率逐年增高。在使用 CsA 前，移植肾的 1 年存活率约为 65%，而在应用免疫制剂 CsA 后，存活率超过 80% ~ 85%^[2]。最近，Hans Sollinger 报告 500 例胰肾同时移植的经验。自 1995 年 5 月开始采用 MMF 代替 AZA 后，存活率增高，急性排斥明显下降，2 年的人存活率为 99%，肾存活率 95%，胰存活率 95%。采用 AZA 者则人存活率 95%，肾 86%，胰 83%。急性排斥于应用 MMF 后由 48% 下降至 15%，成绩令人瞩目。其他中心亦取得了相近的结果，存活率的提高显然与应用新的免疫抑制剂有关，作者早年使用的免疫抑制剂方案为 CsA + AZA + 强地松 + 抗淋巴球细胞蛋白 (ALG)，1991 年开始 14 天应用 OKT3 代替 ALG，后因 OKT3 副作用较大改为 ATG，最近则使用 IL-2 受体单克隆抗体^[3]。

Kahan (1999) 报告 rapamycin 的二期临床试验，该药与 CsA 合用可使急性排斥下降至 7%，450 例移植肾术后存活率 97%，合用后二者的剂量均可减少，并可于短期内撤除皮质激素，加用 FTY20 可进一步加强其免疫抑制作用^[4,5]，但这类免疫抑制剂的作用不是抗原特异性的，长期应用易患感染及肿瘤，而且具有一定的毒性，免疫耐受才是大家追求的最终目标。

Calne (1998) 年在讨论临床可能耐受的机制时，认为肝细胞及源自骨髓的细胞是取得免疫耐受的重要因素。供者肝细胞表面的 MHC-I 具有抑制 T 细胞，60 年代即曾发现在猪的肝移植中，有时可无需使用免疫抑制剂，虽然术后早期有排斥现象，但以后会逐渐好转，称之为英国特殊猪或剑桥现象。曾有报告兄弟间因白血病行骨髓移植，以后又因肾衰从骨髓供者取肾移植，术后可取得永久性免疫耐受^[5,6]。

Starzl 在肝移植中亦发现类似现象，术后排斥反应轻微，存活时间长的患者，甚至可免于继续使用免疫抑制剂，至今已有 90 余例，最长的患者已 14 年未使用免疫药物。这类患者体内可发现供者的白细胞，过路白细胞可在受者体内广泛迁移并长期存活下来。30 年前移植了男性肝脏的女性患者仍可于体内找到具有 Y 染色体的白细胞。特别突出的例子如肠移植成功的患者，肠粘膜下全是受者的白细胞而不发生排斥。器官移植相当于小型的骨髓移植，器官越大，供给的过路白细胞越多，则更能抵消受者的排斥反应，最后达到免疫体战 (immunologic truce)。Starzl 认为这种表现属嵌合体现象 (chimerism) 既体内可同时共存两种不同源的同种细胞，逐步相互适应，抵消对方的免疫效应而共存下来，是人体相互自然免疫抑制的结果。为了加强这一效应，主张在器官移植的同时，自椎体取材行骨髓移植已经初步取得较好的效果^[7,8]。

Starzl (1997) 进一步采用 FLT3 增加树突状细胞与 FK506 合用以求取得免疫耐受^[9]。