

移植物动脉硬化免疫病理机制研究进展

赵小霞

(天津市第四中心医院检验科, 天津市 300143)

[关键词] 移植物动脉硬化; 免疫病理机制; 血管细胞表型

[摘要] 同种异体移植动脉的免疫应答, 尤其是血管内皮和平滑肌细胞的免疫损伤, 引起移植物动脉硬化的发生。T 细胞、细胞因子、抗体等作用于移植物动脉引起血管细胞损伤和表型的变化, 导致移植物血管内膜增厚和血管舒缩功能障碍。本文主要介绍移植物动脉硬化的免疫病理机制。

[中图分类号] R392.4

[文献标识码] A

Research Progress on Immunopathological Mechanisms of Graft Arteriosclerosis

ZHAO Xiao-Xia

(Department of Clinical Laboratory, Tianjin Fourth Central Hospital, Tianjin 300143, China)

[KEY WORDS] Graft Arteriosclerosis; Immunopathological Mechanism; Vascular Cell Phenotype

[ABSTRACT] Immune response of the allograft artery, especially the immune injury of vascular endothelial cells and smooth muscle cells, can cause the occurrence of graft arteriosclerosis. Effects of T cells, cytokines and antibodies on graft artery are to induce the vascular cell injury and phenotype change, and to lead graft vascular intimal thickening and vascular dilation contraction dysfunction. This paper mainly introduces the immunopathological mechanisms of graft arteriosclerosis.

移植物动脉硬化是各种器官移植发生慢性移植物失功的共同病理变化, 主要特点是内膜增生和血管舒缩功能障碍。目前认为移植物动脉硬化是免疫因素和多种非免疫因素共同造成的血管内膜修复损伤的结果。本文就移植物动脉硬化免疫病理机制作一综述。

1 移植物动脉硬化的血管细胞损伤

移植物动脉硬化的血管内膜聚集着平滑肌细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞、巨噬细胞、树突状细胞和自然杀伤(natural killer, NK) 细胞。病理改变主要包括向心性增厚、细胞外基质成分的变化、异常的脂质沉积、斑块内出血^[1], 还有内膜增厚和血管扩张功能障碍^[2], 它们导致动脉管腔狭窄, 下游组织的血流减少和缺血性损伤。

血管损伤后白细胞和血小板趋化到损伤部位, 产生细胞因子和生长因子, 浸润的白细胞和损伤的血管细胞刺激平滑肌细胞移行至血管内膜并增殖,

从而引起内膜增厚^[3]。同时, 白细胞和附近的血管细胞促进生长因子的分泌, 死亡的内皮细胞通过Caspase 途径介导细胞基底膜蛋白多糖生物活性物质的产生, 进而促进平滑肌细胞聚集, 也可起到抑制平滑肌细胞死亡的作用^[4]。

目前移植动脉硬化的可能病理机制多通过临床样本和动物模型探讨。研究发现移植物动脉硬化的主要原因是内皮细胞和平滑肌细胞的免疫损伤, 在遗传学上相同的纯系动物或者缺乏适应性免疫应答的动物进行移植后并不会出现内膜增厚^[5-6]。移植物动脉硬化临床样本的组织病理学分析证实在硬化的血管中有凋亡的内皮细胞, 在血管内皮下间隙尤其是凋亡的内皮细胞下存在分泌穿孔素的杀伤性 T 细胞^[7]; 血管内膜也存在大量可促进血管细胞死亡的颗粒酶 B 和 FasL^[7-8]。在大鼠心脏移植术后的早期, 动脉中就有内皮的损伤, 包括内皮细胞数量的减少、细胞内间隙的出现、细胞外基质的暴露等^[9]。移植物受主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) 限制性,

[收稿日期] 2015-11-30

[修回日期] 2016-02-01

[作者简介] 赵小霞, 博士研究生, 主管技师, 主要从事中药成分提取和抗炎免疫研究, E-mail 为 zhxx_285@163.com。

主要通过 CD4⁺T 细胞和 B 细胞发挥作用^[5-6]。人类的多数移植物排斥反应是通过 T 细胞介导的抗体依赖的途径发挥作用,然而,在模型鼠的研究中证实 CD8⁺T 细胞、穿孔素、颗粒酶 B 诱导内皮细胞死亡,进而死亡的内皮细胞促进移植物动脉硬化的发生,提示杀伤性的 T 细胞促进移植物内皮细胞的死亡和动脉硬化的发生^[10-11]。动脉硬化模型研究也提示内侧平滑肌细胞损伤促进血管内膜增生^[12-13]。在移植物血管排斥反应和动脉硬化中都能发现内侧平滑肌细胞损伤,减少 CD8⁺T 细胞或者封闭 Fas/FasL 途径都能够阻止内侧平滑肌细胞损伤和内膜血管增生^[14-15]。移植物动脉中损伤的平滑肌细胞和附近细胞可能通过产生趋化因子 CXCL12 促进内膜增生,同时促进间质干细胞向血管内膜迁移并增殖^[16]。染料木黄酮对移植物动脉硬化有保护作用,其机制可能与减少了 CD4⁺T 和 CD8⁺T 淋巴细胞的浸润,影响血管内皮生长因子的表达有关^[17]。

细胞损伤释放警报素,这些警报素包括高迁移率族蛋白 1 (high mobility group box-1 protein, HMGB1)、白细胞介素 1 α (interleukin-1 α , IL-1 α)、内源性的 RNA 和 DNA、IL-3,通过与模式识别受体结合活化抗原提呈细胞和血管细胞,它们也会促进抗原提呈细胞募集到损伤或者感染部位,进而发生炎症反应和免疫应答。HMGB1 是一种非组蛋白染色体结合蛋白,在细胞上广泛表达;HMGB1 可以由死亡细胞释放产生,也可以在免疫调节时经巨噬细胞分泌产生,结合到 Toll 样受体 4 (Toll-like receptor 4, TLR4) 和糖基化终产物受体活化抗原提呈细胞^[18]。研究报道死亡的内皮细胞释放 HMGB1 诱导单核细胞产生 IL-1 β 和邻近的内皮细胞产生 IL-1 α ,进而刺激 T 细胞产生应答^[19]。Zou 等^[20]研究显示,在小鼠模型中封闭细胞外 HMGB1 能够阻止慢性心脏移植损伤和移植物动脉硬化的发生。当缺血性和免疫介导的损伤发生时,移植物动脉中死亡的内皮细胞释放 IL-1 α ,进而促进内膜增厚的发生和发展。核酸是由损伤的细胞释放的另一种类型的内源性分子,可以作为警报素来发挥作用。来自病原体的 DNA 和 RNA 能够被各种 Toll 样受体、干扰素基因刺激分子 (stimulator of interferon gene, STING)、黑色素瘤分化相关基因 5 (melanoma differentiation-associated gene-5, MDA5)/视黄酸 (维甲酸) 诱导基因蛋白 I (RIG-I) 识别。尽管 TLR7/8/9 能够识别自身的 RNA 和 DNA,但研究表明自身的 RNA 主要由血管平滑肌的 MDA5/RIG-I 识别,进而促进人冠状动脉

炎症反应的发生^[21]。

以上研究证实了释放的警报素在同种异体移植免疫的活化和移植物动脉硬化进展中的作用。最近将研究聚焦到警报素 IL-33,它在非造血干细胞表达,细胞损伤后释放,当病毒感染后促进保护性免疫应答的发生^[22]。最近研究发现 IL-33 具有抑制心脏移植排斥反应和移植物动脉硬化发展的新作用^[23]。尽管 IL-33 可以促进 Th2 细胞免疫应答的发生,但在移植时 IL-33 发挥免疫抑制作用,可能是通过诱导产生髓样抑制细胞和调节性 T 细胞来发挥作用^[24]。

2 细胞因子介导的移植物血管细胞表型的改变

局部缺血、外科损伤和移植物的免疫排斥引起器官移植后的炎症和免疫应答。在免疫应答过程中,细胞因子激活内皮,促使内皮表达细胞黏附分子和炎症趋化因子,促进血管内的白细胞趋化到局部组织。在这个过程中,内皮形态发生改变增加血管对血浆蛋白的通透性,改变血管细胞的功能和表型^[25]。

炎性细胞因子 IL-1 α 、IL-1 β 、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF) 在移植早期即刺激产生,并大量存在于移植物动脉硬化损伤部位,它们活化相似的信号通道,对血管细胞有累加作用^[26]。IL-17 也在移植物动脉硬化中发挥作用,与 TNF 有相似的活化通道,并协同上调细胞黏附分子和促进白细胞向移植部位趋化。移植物动脉硬化的临床样本研究证实 Th1 细胞相关的细胞因子和趋化因子在与其相关的免疫应答中发挥重要的作用。实验研究证实 γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ) 在移植物动脉硬化的疾病演变中有明确的作用^[27],IFN- γ 广泛作用于内皮细胞和血管平滑肌细胞,刺激内皮细胞上调细胞表面 MHC I 类和 MHC II 类分子的表达;这促进了移植物内皮细胞活化 T 细胞,同时也促进了效应性 T 细胞对血管的识别和靶向作用。趋化因子如 IP-10 与 IFN- γ 协同促进 T 细胞趋化到移植物动脉血管。IFN- γ 提高内皮细胞对 FasL 介导的细胞凋亡的易感性^[28]。在动脉硬化的小鼠模型中发现 IFN- γ 通过加强血管平滑肌细胞的有丝分裂促进内膜增厚^[29]。最近研究证实 IFN- γ 通过靶向 PI3K-Akt-mTOR 信号通路刺激平滑肌细胞增殖^[30]。

3 抗体介导的移植物血管细胞表型的改变

由于基因的多态性,受者的抗体主要识别捐献者的人白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)分子,HLA 抗体可以预示移植物动脉硬化的发展与否,小鼠模型的研究也发现 MHC I 类分子的抗体诱导血管硬化的发生^[31]。抗体促进内皮细胞和平滑肌细胞的增殖和迁徙^[32],这将导致血管壁的改变,表型的改变最终导致动脉结构的改变,即抗体可能通过促进表型改变引起血管病变。同时,HLA 抗体通过上调细胞黏附分子增强免疫反应,也会通过补体依赖的方式提高内皮细胞的抗原提呈能力,从而增强 T 细胞对移植物动脉的免疫应答。NK 细胞通过抗体介导途径也参与了移植物动脉硬化的发展^[31]。一些移植物受者会产生抗非 HLA 分子的抗体,可能通过广泛的炎症反应活化自身反应性淋巴细胞和/或通过自身蛋白水解产生新抗原,非 HLA 抗体靶向血管细胞结合到基底膜蛋白聚糖层粘连蛋白 G 域样 3 上,通过血管紧张素 II 受体发挥作用^[33]。在动物模型中这些抗体诱导或者促进血管功能障碍和移植物动脉硬化的发生^[33]。体液免疫因子 IgG 参与了异品系大鼠移植腹主动脉硬化的过程^[34]。

4 移植物动脉的血管调节功能障碍

血管内皮细胞通过自分泌、内分泌、旁分泌 3 种途径分泌一氧化氮(nitric oxide, NO)、前列环素、内皮素 1(endothelin-1, ET-1)等血管活性物质,发挥调节血管紧张性、抗血栓形成、抑制平滑肌细胞增殖及血管壁炎症反应等功能。血管内皮源性的舒张和收缩因子之间的动态平衡有助于血管内平衡的维持。血管内皮通过作用于血管平滑肌细胞控制血管的收缩和舒张,血管收缩和舒张因子的平衡与平滑肌的结构和功能决定了通过动脉的血流,然而在移植物动脉中打破了这种平衡。内膜增厚和其他改变引起血管舒缩功能障碍,最终导致局部缺血,移植失败^[35]。

4.1 免疫在血管舒张中的作用

NO 是一个重要的血管舒张因子,这种活性气体是由血管内皮表达的内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)作用于 L-精氨酸产生的。NO 可扩散至血管壁平滑肌细胞激活鸟氨酸环化酶,介导环磷酸鸟苷调控的血管舒张。Th1 细胞通过 IFN- γ 和 TNF 减少 eNOS 的表达从而抑制

内皮细胞 NO 的产生^[36],这也是一种对移植早期内皮功能障碍的解释。移植物动脉扩张也受到表达诱导型一氧化氮合酶的 T 细胞产生的 NO 的影响,通过这一机制产生的 NO 降低了平滑肌细胞对于通过 eNOS 产生的 NO 介导的血管舒张作用的敏感性^[37]。

Th17 细胞也参与了移植物动脉硬化的发生,IL-17 通过协同活化核因子 κ B、促细胞分裂原活化蛋白激酶 1 和 JNK 信号通道促进内皮细胞 eNOS 的表达和 NO 的产生,而且 eNOS 也促进 IL-17 的表达;IL-17 的高表达与血管舒张相关,但与内膜增厚和 eNOS 表达增多不相关^[38]。这些研究数据提示在移植物动脉硬化中 IL-17 有助于动脉舒张。也有研究报道 IL-17 减弱了小鼠内皮细胞 eNOS 的作用,有助于促进高血压的发生^[39]。故 IL-17 在移植物动脉硬化中的作用还有待进一步研究。

4.2 免疫在血管收缩中的作用

内皮源性收缩因子(endothelium-derived contracting factor, EDCF)也是动脉舒缩功能的一个关键调节因子,对于 EDCF 的讨论主要聚焦在 ET-1,它是内生的血管收缩剂,有很明确的病理生理作用。TNF、IL-1、IL-6 和 IFN- γ 均能诱导内皮细胞产生 ET-1。

人和其他哺乳动物的小动脉都保持一定的紧张性收缩,以维持基础水平的内皮非依赖的动脉张力来对抗血管收缩和舒张因子的作用,他们共同影响血管直径和血流量。异体移植动脉中的免疫应答诱导平滑肌细胞死亡,可能减弱动脉的功能^[40]。在移植物动脉硬化的大鼠模型中,肌源性的收缩和舒张在最后都会发生,提示免疫介导的损伤和功能障碍是普遍存在的。在心血管异体移植中,压力诱导的肌源性损伤增加了血管内的液压并引起液体流入细胞间隙,导致心室顺应性降低和器官衰竭。环孢菌素引起的免疫抑制降低了中间层平滑肌细胞的死亡,保护了肌源性活动^[41-42]。

5 结 语

同种异体移植后的免疫应答造成血管壁细胞的损伤和血管细胞表型的改变,在动脉修复的过程中促进了移植物动脉硬化的发生。对这些病理机制的深刻理解将有助于未来移植的发展,可以通过抑制同种异体移植物血管的免疫活化和血管壁的增生反应来降低移植物动脉硬化的发生和发展。

[参考文献]

- [1] Castellani C, Angelini A, de Boer OJ, et al. Intraplaque hemorrhage in cardiac allograft vasculopathy [J]. *Am J Transplant*, 2014, 14(1): 184-192.
- [2] Anderson TJ, Meredith IT, Uehata A, et al. Functional significance of intimal thickening as detected by intravascular ultrasound early and late after cardiac transplantation[J]. *Circulation*, 1993, 88(3): 1093-100.
- [3] Ferns GA, Raines EW, Sprugel KH, et al. Inhibition of neointimal smooth muscle accumulation after angioplasty by an antibody to PDGF[J]. *Science*, 1991, 253(5024): 1129-132.
- [4] Soule ZM, Pilon EA, Dieude M, et al. The perlecan fragment LG3 is a novel regulator of obliterative remodeling associated with allograft vascular rejection [J]. *Circ Res*, 2012, 110(1): 94-104.
- [5] Shi C, Lee WS, He Q, et al. Immunologic basis of transplant-associated arteriosclerosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93(9): 4051-056.
- [6] Russell PS, Chase CM, Winn HJ, et al. Coronary atherosclerosis in transplanted mouse hearts: II. importance of humoral immunity [J]. *J Immunol*, 1994, 152(10): 135-141.
- [7] Dong C, Wilson JE, Winters GL, et al. Human transplant coronary artery disease: pathological evidence for Fas-mediated apoptotic cytotoxicity in allograft arteriopathy [J]. *Lab Invest*, 1996, 74(5): 921-931.
- [8] Choy JC, McDonald PC, Suarez AC, et al. Granzyme b in the arteriosclerosis and transplant vascular disease: association with cell death and atherosclerotic disease severity [J]. *Mod Pathol*, 2003, 16(5): 460-470.
- [9] Lai JC, Tranfield EM, Walker DC, et al. Ultrastructural evidence of early endothelial damage in coronary arteries of rat cardiac allografts [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2003, 22(9): 993-1004.
- [10] Choy JC, Kerjner A, Wong BW, et al. Perforin mediates endothelial cell death and resultant transplant vascular disease in cardiac allografts [J]. *Am J Pathol*, 2004, 165(1): 127-133.
- [11] Schnickel GT, Whiting D, Hsieh GR, et al. CD8 lymphocytes are sufficient for the development of chronic rejection [J]. *Transplantation*, 2004, 78(11): 1634-639.
- [12] Clarke MC, Figg N, Maguire JJ, et al. Apoptosis of vascular smooth muscle cells induces features of plaque vulnerability in atherosclerosis [J]. *Nat Med*, 2006, 12(9): 1075-080.
- [13] Yu H, Clarke MC, Figg N, et al. Smooth muscle cell apoptosis promotes vessel remodeling and repair via activation of cell migration, proliferation, and collagen synthesis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011, 31(11): 2402-409.
- [14] Legare JF, Issekutz T, Lee TD, et al. CD8⁺T lymphocytes mediate destruction of the vascular mediastinal model of chronic rejection [J]. *Am J Pathol*, 2000, 157(3): 859-865.
- [15] Hart-Matyas M, Nejat S, Jordan JL, et al. IFN-gamma and Fas/FasL pathways cooperate to induce medial cell loss and neointimal lesion formation in allograft vasculopathy [J]. *Transpl Immunol*, 2010, 22(3-4): 157-164.
- [16] Li J, Liu S, Li W, et al. Vascular smooth muscle cell apoptosis promotes transplant arteriosclerosis through inducing the production of SDF-1 α [J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(8): 2029-043.
- [17] 朱国超, 陈知水, 董冲, 等. 染料木黄酮防治大鼠移植动脉硬化的实验研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2006, 16(15): 2294-297.
- [18] Sims GP, Rowe DC, Rietdijk ST, et al. HMGB1 and RAGE in inflammation and cancer [J]. *Annu Rev Immunol*, 2010, 28: 367-388.
- [19] Rao DA, Tracey KJ, Pober JS. IL-1 α and IL-1 β are endogenous mediators linking cell injury to the adaptive alloimmune response [J]. *J Immunol*, 2007, 179(10): 6536-546.
- [20] Zou H, Yang Y, Gao M, et al. HMGB1 is involved in chronic rejection of cardiac allograft via promoting inflammatory-like mDCs [J]. *Am J Transplant*, 2014, 14(8): 1765-777.
- [21] Ahmad U, Ali R, Lebastchi AH, et al. IFN-gamma primes intact human coronary arteries and cultured coronary smooth muscle cells to double-stranded RNA- and self-RNA-induced inflammatory responses by upregulating TLR3 and melanoma differentiation-associated gene 5 [J]. *J Immunol*, 2010, 185(2): 1283-294.
- [22] Bonilla WV, Frohlich A, Senn K, et al. The alarmin interleukin-33 drives protective antiviral CD8⁺ T cell responses [J]. *Science*, 2012, 335(6071): 984-989.
- [23] Brunner SM, Schiechl G, Fal W, et al. Interleukin-33 prolongs allograft survival during chronic cardiac rejection [J]. *Transpl Int*, 2011, 24(10): 1027-039.
- [24] Matta BM, Lott JM, Mathews LR, et al. IL-33 is an unconventional alarmin that stimulates IL-2 secretion by dendritic cells to selectively expand IL-33R/ST2⁺ regulatory T cells [J]. *J Immunol*, 2014, 193(8): 4010-020.
- [25] Mitchell RN, Libby P. Vascular remodeling in transplant vasculopathy [J]. *Circ Res*, 2007, 100(7): 967-978.
- [26] Wu CJ, Lovett M, Wong-Lee J, et al. Cytokine gene expression in rejecting cardiac allografts [J]. *Transplantation*, 1992, 54(2): 326-332.

- [27] Stadlbauer TH, Wagner AH, Holschermann H, et al. AP-1 and STAT-1 decoy oligodeoxynucleotides attenuate transplant vasculopathy in rat cardiac allografts[J]. *Cardiovasc Res*, 2008, 79(4): 698-705.
- [28] Li JH, Poher JS. The cathepsin B death pathway contributes to TNF plus IFN- γ -mediated human endothelial injury[J]. *J Immunol*, 2005, 175(3): 1 858-866.
- [29] Tellides G, Tereb DA, Kirkiles-Smith NC, et al. Interferon- γ elicits arteriosclerosis in the absence of leukocytes[J]. *Nature*, 2000, 403(6766): 207-211.
- [30] Yu L, Qin L, Zhang H, et al. AIP1 prevents graft arteriosclerosis by inhibiting interferon- γ -dependent smooth muscle cell proliferation and intimal expansion[J]. *Circ Res*, 2011, 109(4): 418-427.
- [31] Hirohashi T, Chase CM, Della-Pelle P, et al. A novel pathway of chronic allograft rejection mediated by NK cells and alloantibody[J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(2): 313-321.
- [32] Jindra PT, Jin YP, Rozengurt E, et al. HLA class I antibody-mediated endothelial cell proliferation via the mTOR pathway[J]. *J Immunol*, 2008, 180(4): 2 357-366.
- [33] Soulez M, Pilon EA, Dieude M, et al. The perlecan fragment LG3 is a novel regulator of obliterative remodeling associated with allograft vascular rejection[J]. *Circ Res*, 2012, 110(1): 94-104.
- [34] 万云乐, 沈文律, 李幼平, 等. 体液免疫在异品系大鼠腹主动脉移植硬化中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2007, 23(2): 393-395.
- [35] Hollenberg SM, Klein LW, Parrillo JE, et al. Coronary endothelial dysfunction after heart transplantation predicts allograft vasculopathy and cardiac death[J]. *Circulation*, 2001, 104(25): 3 091-096.
- [36] Koh KP, Wang Y, Yi T, et al. T cell-mediated vascular dysfunction of human allografts results from IFN- γ dysregulation of NO synthase[J]. *J Clin Invest*, 2004, 114(6): 846-856.
- [37] Choy JC, Yi T, Rao DA, et al. CXCL12 induction of inducible nitric oxide synthase in human CD8 T cells[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2008, 27(12): 1 333-339.
- [38] Liu AC, Lee M, McManus BM, et al. Induction of endothelial nitric oxide synthase expression by IL-17 in human vascular endothelial cells: implications for vascular remodeling in transplant vasculopathy[J]. *J Immunol*, 2012, 188(3): 1 544-550.
- [39] Nguyen H, Chiasson VL, Chatterjee P, et al. Interleukin-17 causes Rho-kinase-mediated endothelial dysfunction and hypertension[J]. *Cardiovasc Res*, 2013, 97(4): 696-704.
- [40] Hart-Matyas M, Nejat S, Jordan JL, et al. IFN- γ and Fas/FasL pathways cooperate to induce medial cell loss and neointimal lesion formation in allograft vasculopathy[J]. *Transpl Immunol*, 2010, 22(3-4): 157-164.
- [41] Moien-Afshari F, Choy JC, McManus BM, et al. Cyclosporine treatment preserves coronary resistance artery function in rat cardiac allografts[J]. *J Heart Lung Transplant*, 2004, 23(2): 193-203.
- [42] von Rossum A, Laher I, Choy JC. Immune-mediated vascular injury and dysfunction in transplant arteriosclerosis[J]. *Front Immunol*, 2015, 12(5): 684-694.

(此文编辑 曾学清)