

# 器官移植受者免疫状态监测最新进展

马军 贺强 李先亮

**【摘要】**器官移植受者术后常规使用免疫抑制剂治疗，如何选择合理的免疫抑制方案，既能避免免疫抑制不足引起的移植物排斥反应，又可减少因免疫过度导致的感染、药物中毒和恶性肿瘤是器官移植术后治疗的一大难题。由于目前没有一种快速有效的方法评估受者的免疫状态，因而无法快速准确地判断免疫抑制方案的使用是否合理。本文从血药浓度监测和免疫状态评估两方面综述了国内外对器官移植术后受者免疫监测应用的最新研究进展，为实体器官移植后免疫监测提供另一种全新思路 and 选择。

**【关键词】**器官移植；免疫监测；免疫抑制剂；移植物排斥反应；细胞因子；Cylex 免疫细胞功能评估

**【中图分类号】** R617, R392.4 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2019) 03-0019-04

器官移植受者术后常规服用免疫抑制剂，是其长期存活的重要保障。但是如何合理管理免疫抑制剂方案，是目前所有移植中心都在探索的重要课题。临床上发现如果免疫抑制剂使用不足，器官移植受者术后免疫系统不能被适度地抑制，可能导致移植器官的排斥反应<sup>[1]</sup>；如果免疫抑制剂使用过度，器官移植受者术后免疫系统功能被过度抑制，则可能导致受者发生严重的感染、药物中毒、肿瘤等并发症<sup>[2-4]</sup>。对于存活的移植受者，如何合理使用免疫抑制剂，避免药物带来的影响，是我们面临的挑战。美国食品与药品监督管理局（Food and Drug Administration, FDA）曾给出指导意见：个体的免疫抑制剂血药浓度不能作为调整用药的单一指标，每例受者在调整用药剂量之前一定要结合临床并全面的评估。免疫抑制剂用量和移植物功能之间，不是单纯的线性相关关系，想进一步精准有效地应用免疫抑制剂，我们还需要一种快速有效的办法来评估受者免疫系统的状态，三方协调配合起来，才可以判断免疫抑制方案使用是否合理<sup>[5]</sup>。我们综述目前临床上常见的药物管理方法和免疫评估手段，希望可以精准地应用免疫抑制剂提供帮助。

## 1 血药浓度监测在器官移植术后免疫抑制剂管理中的应用

移植术后常规免疫抑制剂包括钙神经蛋白抑制剂，如他克莫司、环孢素等，还有吗替麦考酚酯、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白（mammalian target of rapamycin, mTOR）抑制

剂以及肾上腺皮质激素（激素）等，这些药物单药应用或者联合应用是各中心术后免疫抑制治疗的基础。早期我们根据经验，按照体质量来调节药量，而且多遵从西方的用药经验，易导致东方人用药过量，带来很多惨痛教训。后来我们通过监测血药浓度来指导移植术后用药，摸索出适合我国移植术后受者的血药浓度，术后管理相对精准起来<sup>[6]</sup>。但是到目前为止，我们还没有得到针对免疫抑制剂血药浓度与免疫状态的很好的相关研究结果。

### 1.1 免疫抑制剂的药浓度个体化差异非常大

由于个体药物代谢动力学的差异以及供、受者药物代谢基因的不同，钙神经蛋白抑制剂的药浓度与其药效之间缺乏良好的相关性，即使受者的血药浓度完全处于推荐的药浓度范围内，也会发生免疫抑制过度或不足而导致的严重感染、肿瘤发生或排斥反应等情况<sup>[7-9]</sup>。另外，移植受者早期常联合服用多种免疫抑制剂，术后早期胃肠道吸收功能恢复不同，术前个体细胞内干扰素（interferon, IFN）- $\gamma$ 、白细胞介素（interleukin, IL）-2 水平等<sup>[10]</sup>，都会影响术后免疫状态，同时也影响血药浓度。药物效力作用和曲线下面积（area under curve, AUC）<sub>0-12</sub> 相关，术后我们常规推荐监测血药浓度，最好的方法是每 2 h 监测 1 次，这在临床上难以实现。因此我们选择监测 C<sub>0</sub> 和（或）C<sub>2</sub> 血药浓度来反映 AUC，虽然带来了便捷性，但是仍存在很多问题。至少对于他克莫司来说，C<sub>0</sub> 的血药浓度和 AUC<sub>0-12</sub> 没有直接相关性，C<sub>2</sub> 和其它时间点的血药浓度的相关性反而更好<sup>[11]</sup>。所以用单一 C<sub>0</sub> 血药浓度来反映免

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.03.019

基金项目：国家自然科学基金（81273270、81471590、81571554）

作者单位：100020 北京，首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科

作者简介：马军，男，1979 年生，博士研究生，主治医师，研究方向为肝移植与肝胆胰恶性肿瘤，Email: bobma1979@sina.com

通信作者：李先亮，男，1971 年生，博士，副主任医师，研究方向为肝移植与肝胆胰恶性肿瘤，Email: lixianliangbjcy@126.com；贺强，男，1964 年生，博士，主任医师，研究方向为肝移植与肝胆胰恶性肿瘤，Email: heqiang349@sina.com

疫抑制状态是不全面的<sup>[12]</sup>。

免疫抑制剂的血药浓度与药物效力也没有必然关系。我们发现很多个体维持良好移植物功能的血药浓度差别很大,个别受者他克莫司血药浓度在 2~3 ng/mL 可以长期维持正常功能,而有些受者需要 10~14 ng/mL,甚至要联合用药才可以控制排斥反应。我们在临床实践中也发现,单独检测血药浓度并不能可靠地反映受者的免疫抑制状态,有些受者在血药浓度很高的情况下,仍然会出现淋巴细胞过度激活的情况。

西罗莫司是另一类常用的免疫抑制剂,目前也有方法监测其血药浓度,但是该药的药浓度和免疫状态之间的关系还需要进一步研究。吗替麦考酚酯的血药浓度还不能合理地监测,只能根据白细胞水平和不良反应情况来调整免疫抑制方案,这也是一个面临挑战的领域<sup>[13]</sup>。

## 1.2 免疫状态监测的必要性及其在移植术后免疫抑制剂管理中的应用

文献报道外周血中 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 两类 T 淋巴细胞亚群的相互制约维系着机体免疫系统的平衡<sup>[14]</sup>。检测淋巴细胞亚群的数量仅仅能够评估淋巴细胞数量的变化,而不能有效地反映淋巴细胞功能的变化。有些移植中心通过监测淋巴细胞亚群来反应免疫状态,是一个合理的发展方向,但是现实问题是,临床监测的淋巴细胞亚群情况和整体的免疫状态以及移植物功能之间有效关联。因此如何从整体上监测免疫状态,是一个值得研究的方向。我们在此基础上,研发了一种监测外周血淋巴细胞亚群的方法,根据我们对免疫系统的理解,有选择地检测 30 个淋巴细胞亚群,并根据该细胞亚群的功能和作用,赋予不同权重和分值,最终建立了一个免疫评分体系(具体评分方法申请国家专利中)。根据监测外周血淋巴细胞亚群的分布以及具体的免疫评分,来指导整体的免疫状态监测,初步的数据结果推动了临床药物管理的进步,通过这个免疫评分,我们有机地把免疫抑制剂血药浓度与移植物功能以及免疫状态联系起来,三方联动调整用药,做到精准个体化管理。

## 2 免疫状态评估方法在器官移植术后免疫抑制剂管理中的应用

### 2.1 Cylex 免疫细胞功能评估法

同种异体移植排斥反应主要由 T 细胞受体介导,目前临床上使用和正在研究的绝大多数免疫抑制剂都抑制 T 细胞活化及其功能<sup>[15]</sup>。CD4<sup>+</sup>T 细胞被认为是启动排斥反应的影响因素,其三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)活性的测量值反映了免疫细胞功能的等级<sup>[16]</sup>。因此 FDA 批准了唯一的免疫状态评估试剂盒,Immuknow<sup>TM</sup>-Cylex 免疫细胞功能测定试剂盒。

Immuknow<sup>TM</sup>-Cylex 免疫细胞功能测定试剂盒具有快速、简便等特点,主要检测移植术后受者 CD4<sup>+</sup>T 细胞内 ATP 的水平,通过该水平反映受者的免疫状态。然而调节性 T 细胞的激活也需要 ATP 支持,而排斥反应中,CD8<sup>+</sup>T

细胞也参与其中,还有树突状细胞等<sup>[17-18]</sup>,因此单纯 CD4<sup>+</sup>T 细胞的 ATP 水平,理论上不能全面反应受者的免疫激活状态。

作为一个突破性的方法,Immuknow<sup>TM</sup>-Cylex 免疫细胞功能测定试剂盒在很多中心迅速推广。但是最后的结论却没有带给我们惊喜,很多实验证明,该监测结果和排斥反应基本无关,个别研究发现 CD4<sup>+</sup>T 细胞内 ATP 的数量与受者发生感染的几率可能有关<sup>[19]</sup>。

### 2.2 细胞因子监测法

细胞因子是由免疫细胞所分泌,在很大程度上代表了免疫细胞的功能,是机体免疫系统功能的执行者和体现者<sup>[20]</sup>。因而检测全血免疫细胞的细胞因子,不仅反映了淋巴细胞的功能,还能够反映整个免疫系统中所有免疫细胞的功能。因此其结果能够很好地代表免疫系统的功能。根据细胞因子作用的不同,可大致分为:细胞免疫相关细胞因子(IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-12 和 IL-17)和体液免疫相关细胞因子(IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13)以及趋化因子[粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, GM-CSF), 粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony-CSF, G-CSF), 单核细胞趋化蛋白(monocyte chemoattractant protein, MCP)-1, 巨噬细胞炎性蛋白(macrophage inflammatory protein, MIP)-1 等]。细胞免疫相关细胞因子和辅助性 T 细胞(T helper cell, Th) 1 反应和 Th17 有关,体液免疫相关细胞因子主要和 Th2 有关,而趋化因子在整个免疫系统也起到重要的作用<sup>[21]</sup>。因此通过检测上述各类细胞因子水平来整体反映机体的免疫状态是可行的,但具体选择哪种细胞因子,学术上争议很大<sup>[22]</sup>。目前还没有确切的监测方案。

### 2.3 巨细胞病毒-特异的 T 细胞监测法

基于移植术后临床出现较多的特异性感染病例,对移植供受者的血清特异性病原进行监测也是评估免疫状态的一种方法,如病毒、抗酸杆菌、非典型肺炎(severe acute respiratory syndrome, SARS)等<sup>[23]</sup>。既往对移植后受者细胞免疫重建的研究主要局限于 T 细胞及其亚群数量的重建<sup>[24]</sup>,以及近年来利用定量实时聚合酶链反应(quantitative real time-polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测 T 细胞中的 T 细胞受体重组删除环出现的频率,但 T 细胞及其亚群数量的重建只是细胞免疫重建的一部分,而 T 细胞功能的重建对评估移植后细胞免疫重建更为重要。因此需要检测和监测巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)特异性细胞毒 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)的活性及其介导的细胞免疫应答的发展与转归,才能够对移植受者术后的 CMV 特异性细胞免疫状态有直观准确的了解。这就需要直接对 CMV 特异性 CTL 的检测(包括细胞的数量、功能及活性状态),而不能仅仅依靠检测 T 细胞及其亚群数量重建和评价非特异性细胞免疫功能等一般性的方法和技术。目前有各种方法可用于监测病原体的特定反应,如基于 IFN- $\gamma$  释放试验的 CMV 特异性 T 细胞介导免疫反应、

细胞内细胞因子染色或主要组织相容性复合体-四聚体技术<sup>[25]</sup>。

还有一些中心通过监测水溶性 CD30 水平、单核细胞人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) -DR 状态变化和终末期肝病模型 (model for end-stage liver disease, MELD) 评分等来非特异性监测受者免疫状态<sup>[26-30]</sup>, 可能在某种程度上有一定作用, 但是不能够全面反映受者的整体免疫水平, 因此临床应用受到了一定的限制。

### 3 小结

器官移植是不同的终末期疾病的首选治疗方式。现代化免疫抑制剂的应用极大地提高了器官移植受者的生活期待值, 但这些药物并非灵丹妙药, 它们依然存在许多的临床问题。为防止排斥反应, 移植受者必须长期服用免疫抑制剂, 达到稳定抑制自身免疫状态的目的。临床医师的目标笃定, 始终要避免血药浓度低水平导致器官排斥反应, 防止血药浓度过高导致药物中毒和长期慢性不良反应, 医师需要在一个狭窄的药物窗口之间, 寻找到一个合理的平衡。而免疫状态监测就是让我们走向成功彼岸的唯一平衡杆。

#### 参考文献:

- [1] 毛家玺, 邹游, 郭闻渊. 肝移植治疗肝豆状核变性的效果观察 [J]. 临床肝胆病杂志, 2017,33(10):1977-1980. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2017.10.026.  
MAO JX, ZOU Y, GUO WY. Clinical effect of liver transplantation in the treatment of hepatolenticular degeneration [J]. J Clin Hepatol, 2017,33(10):1977-1980. DOI:10.3969/j.issn.1001-5256.2017.10.026.
- [2] SINGH A, GOVIL D, BAVEJA UK, et al. Epidemiological analysis of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacterial infections in adult live donor liver transplant patients [J]. Indian J Crit Care Med, 2018, 22(4):290-296. DOI: 10.4103/ijccm.IJCCM\_206\_17.
- [3] FISHMAN JA. Opportunistic infections--coming to the limits of immunosuppression? [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2013,3(10):a015669. DOI: 10.1101/cshperspect.a015669.
- [4] KOTARSKA K, WUNSCH E, KEMPIŃSKA-PODHORODECKA A, et al. Factors affecting health-related quality of life and physical activity after liver transplantation for autoimmune and nonautoimmune liver diseases: a prospective, single centre study [J]. J Immunol Res, 2014:738297. DOI: 10.1155/2014/738297.
- [5] GOLDSCHMIDT I, KARCH A, MIKOLAJCZYK R, et al. Immune monitoring after pediatric liver transplantation - the prospective ChilSFree cohort study [J]. BMC Gastroenterol, 2018,18(1):63. DOI: 10.1186/s12876-018-0795-x.
- [6] 王啸晨, 葛军, 陈雅文, 等. 器官移植术后病原体感染检测研究进展 [J]. 器官移植, 2018,9(6):474-477. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2018.06.015.  
WANG XC, GE J, CHEN YW, et al. Research progress on pathogen infection detection after organ transplantation [J]. Organ Transplant, 2018,9(6):474-477. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2018.06.015.
- [7] ADAM R, KARAM V, DELVART V, et al. Improved survival in liver transplant recipients receiving prolonged-release tacrolimus in the European Liver Transplant Registry [J]. Am J Transplant, 2015,15(5):1267-1282. DOI: 10.1111/ajt.13171.
- [8] GASTACA M, VALDIVIESO A, BUSTAMANTE J, et al. Favorable longterm outcomes of liver transplant recipients treated de novo with once-daily tacrolimus: results of a single-center cohort [J]. Liver Transpl, 2016,22(10):1391-1400. DOI: 10.1002/lt.24514.
- [9] KIM JM, KWON CH, JOH JW, et al. Conversion of once-daily extended-release tacrolimus is safe in stable liver transplant recipients: a randomized prospective study [J]. Liver Transpl, 2016,22(2):209-216. DOI: 10.1002/lt.24336.
- [10] 王振璞, 蒋欣, 苗书斋, 等. 甲泼尼龙与醋酸泼尼松治疗肾移植术后肺部感染 [J]. 实用医学杂志, 2017,33(1):22-26. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2017.01.006.  
WANG ZP, JIANG X, MIAO SZ, et al. Prospective study of methylprednisolone and prednisone therapy for patients with pulmonary infection after renal transplantation [J]. J Pract Med, 2017,33(1):22-26. DOI:10.3969/j.issn.1006-5725.2017.01.006.
- [11] MORENO GONZALES M, MYHRE L, TANER T. Sublingual tacrolimus in liver transplantation: a valid option? [J]. Transplant Proc, 2016,48(6):2102-2106. DOI: 10.1016/j.transproceed.2016.03.043.
- [12] HURST AL, CLARK N, CARPENTER TC, et al. Supra-therapeutic tacrolimus concentrations associated with concomitant nicardipine in pediatric liver transplant recipients [J]. Pediatr Transplant, 2015,19(4):E83-E87. DOI: 10.1111/ptr.12470.
- [13] STRATHIE PAGE SJ, TAIT CP. Mycophenolic acid in dermatology a century after its discovery [J]. Australas J Dermatol, 2015, 56(1):77-83. DOI: 10.1111/ajd.12259.
- [14] DURAND M, LACOSTE P, DANGER R, et al. High circulating CD4<sup>+</sup>CD25<sup>hi</sup>FOXP3<sup>+</sup> T-cell sub-population early after lung transplantation is associated with development of bronchiolitis obliterans syndrome [J]. J Heart Lung Transplant, 2018,37(6):770-781. DOI: 10.1016/j.healun.2018.01.1306.
- [15] 陈规划, 姜楠. 肝移植免疫耐受的研究热点和思考 [J]. 器官移植, 2017,8(1):1-4. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2017.01.001.  
CHEN GH, JIANG N. Research focus and thinking of immune tolerance in liver transplantation [J]. Organ Transplant, 2017,8(1):1-4. DOI:10.3969/j.issn.1674-7445.2017.01.001.
- [16] SUGIYAMA K, TSUKAGUCHI M, TOYAMA A, et al. Immune monitoring with a lymphocyte adenosine triphosphate assay in kidney transplant recipients treated with a calcineurin inhibitor [J]. Exp Clin Transplant, 2014,12(3):195-199.
- [17] 邓小红, 张倩倩, 蔡燕, 等. 肝癌患者肝移植前外周血免疫表型分析 [J]. 中山大学学报 (医学科学版), 2018,39(2):178-185,226.  
DENG XH, ZHANG QQ, CAI Y, et al. Detection of immune cell subsets of peripheral blood in hepatocellular carcinoma before liver transplantation [J]. J Sun Yat-sen Univ (Med Sci), 2018,39(2):178-185,226.
- [18] MUNN DH, MELLOR AL. Indoleamine 2,3 dioxygenase and metabolic control of immune responses [J]. Trends Immunol, 2013,34(3):137-143. DOI: 10.1016/j.it.2012.10.001.
- [19] PÉREZ-JACOISTE ASÍN MA, FERNÁNDEZ-RUIZ M, LÓPEZ-MEDRANO F, et al. Monitoring of intracellular adenosine triphosphate in CD4(+) T cells to predict the occurrence of cytomegalovirus disease in kidney transplant recipients [J]. Transpl Int, 2016,29(10):1094-1105. DOI: 10.1111/tri.12816.