

免疫重建

Immunoreconstitution

谢蜀生

(北京医科大学免疫学教研室,教授 北京 100083)

机体丧失功能的病变器官可以通过器官移植重建其生理功能。骨髓是一切血细胞和免疫细胞的来源,骨髓移植(BMT)不但可以治疗先天、后天造血与免疫缺陷病,而且可以重建由于大剂量放疗和化疗以及电离辐射所致的骨髓衰竭患者(放射病)的造血与免疫功能。因此,骨髓移植是临床治疗多种疾病的重要手段。近年来,临床骨髓移植有明显上升的趋势。据国际骨髓移植注册登记处(IBMTR)的统计,近三年内在全世界 41 个主要国家中,接受异基因(Allogeneic)和同基因(Syngeneic)骨髓移植的患者共 10 887 例,其中用于治疗白血病的占 73%,其他恶性病的占 11%,再生障碍性贫血的占 9%,免疫缺陷病的占 3%,地中海贫血的占 2%,遗传代谢病的占 2%。从接受骨髓移植的病人数目的统计曲线看,80 年代以来,其人数呈直线上升之势。据估计,这种趋势还将继续下去。到 1995 年,一年内大约会有近 1 万人接受异基因骨髓移植。这些统计数据中尚未包括自身(Autologous)骨髓移植者,而自身骨髓移植近年来在治疗晚期实体瘤方面已显示出引人注目的潜力。毫无疑问,用骨髓移植进行造血与免疫功能重建,在临床多种常规手段难以治愈的重大疾病的治疗上,将越来越显示出其重要性。

目前骨髓移植临床应用中存在的主要问题是:

1. 骨髓移植的免疫排斥问题

接受骨髓移植的通常是先天免疫缺损或经高剂量放疗和化疗的白血病患者,他们的免疫功能极度低下或完全丧失,无力排斥植入的异体骨髓。相反,骨髓本身是免疫器官,含有丰富的免疫细胞,包括成熟的 B 淋巴细胞和经血流带入的成熟 T 细胞,它们将识别骨髓受者的组织器官,并诱发损伤性的免疫应答,导致一种特殊形式的移植排斥——移植抗宿主病(GVHD)。由于除同卵双生者外,无关个体中组织相容性基因位点完全相配的个体极为罕见,因此异基因骨髓移植是临床骨髓移植的主要方式。这样,解决 GVHD 就成了骨髓移植成功与否的

关键问题。

2. 骨髓移植后的免疫重建问题

骨髓移植后患者长期免疫缺损,尤以 T 细胞为甚。这是骨髓移植后患者极易受细菌、病毒及其他病原微生物感染而导致治疗失败的主要原因。加速骨髓移植后免疫功能重建的过程,促进免疫功能的早期恢复是提高骨髓移植成功率的一个十分重要的研究课题。

一、防止 GVHD 的措施

1. 组织相容性配型

人类主要组织相容性基因复合物(HLA)位于第 6 对染色体上。HLA 有 A、B、C、D 四个基因位点,其中 D 位点又可分为 D_p、D_q、D_β 三个亚区。HLA 基因以单倍体共显性的方式表达,因此从无关个体中寻找 HLA 完全相配的个体几乎是不可能的。现在的研究表明,即使 HLA 完全相配的同胞骨髓移植,仍有 30~70% 的骨髓受者发生 GVHD。因此,HLA 配型只能降低 GVHD 的强度,仍不能完全避免 GVHD 的发生。

2. 免疫抑制剂的应用

应用免疫抑制药物可以有效地控制 GVHD 的发生。早期应用的氨甲喋呤、环磷酰胺、皮质激素等在临床应用中证明对防止 GVHD 是有效的,但它们的缺点是都会非特异地抑制免疫功能,使机体免疫功能全面下降,加重了骨髓移植后免疫功能的缺损,增加了移植后感染的发生率。70 年代后期以来陆续出现了几种主要抑制 T 细胞功能的强力免疫抑制剂,如环孢素 A、FK-506 等,大大地提高了器官移植(包括骨髓移植)的成功率,使临床器疗移植进入了一个新阶段。但这类药物有明显的肾毒性,难以长期大量使用。除上述免疫抑制药物外,抗胸腺细胞球蛋白,抗人 T 细胞单克隆抗体等也被单独或与各类免疫抑制药物合用来预防 GVHD 的发生,取得了较好的效果。

3. 体外去除骨髓中的 T 细胞

80 年代,免疫学研究证明,骨髓中成熟 T 细胞是 GVHD 发生的主要原因。实验研究发现,在骨髓移植前,先在体外去除其中的 T 细胞可以成功地预防 GVHD。目前用抗 T 细胞单克隆抗体加补体、T 细胞特异的免疫毒素都可以通过在体外与骨髓共育,有效地去除 T 细胞而不会损伤造血干细胞的活性。此外,用 E 玫瑰花法以及抗 T 细胞单抗标记的免疫磁球等物理分离法,也可将骨髓中的 T 细胞去除。上述方法的应用,在预防 GVHD 的发生上都取得了很好的效果。但是骨髓去除 T 细胞后会发生宿主排斥移植,使去除了 T 细胞的骨髓不易植活。其原因是,虽然接受骨髓移植的患者免疫功能极度低下,但仍存在有活性的免疫细胞。当大量异体骨髓细胞输入后,骨髓中的 T 细胞可以抑制或杀伤这些残留的免疫细胞,所以不会发生移植骨髓受排斥的现象。但当植入的骨髓中缺乏 T 细胞时,它们就可以产生排斥移植物的反应,导致移植失败。此外还发现,接受去除 T 细胞的异基因骨髓的白血病患者,其白血病的术后复发率也升高。这些现象说明,异基因骨髓中的 T 细胞具有双重功能。一方面它会引起致死性的 GVHD 的发生;另一方面它在杀伤体内残存的肿瘤细胞以及提高骨髓植活率方面起着重要作用。如何适当地清除 T 细胞以避免重症 GVHD 的发生,但又保持其抗肿瘤活性是临床实践需要解决的问题。

4. 免疫耐受的诱导

移植排斥是免疫系统对“非己”成份的识别与应答的结果。通过人工的方法诱导器官供、受体之间的免疫耐受,是避免移植排斥最理想的方法。免疫耐受一直是免疫学研究的中心问题之一。早期的研究主要集中在胚胎期或新生期 B 细胞耐受的诱导及阐明其产生机理上。近 10 几年来,免疫耐受的研究重点已转向成年期及 T 细胞耐受,因而使研究更接近于临床器官移植的实践。这方面的研究近年来取得了迅速的进展,并在动物器官移植的实验研究上已取得令人鼓舞的成功。免疫耐受的研究不但对免疫学的基本理论,而且对器官移植的临床实践都将产生重大影响。可以预料,免疫耐受的研究必将为临床器官移植排斥问题的最终解决开辟道路。

二、骨髓移植后免疫功能重建的研究

骨髓移植后,造血干细胞在受者体内须经历一个逐步分化、发育、成熟的过程才能重建机体的造血与免疫功能。研究发现,开始重建的免疫系统中抑制细胞的活性明显偏高,加上骨髓移植后免疫抑制剂的使用,以及不同程度存在的 GVHD 都会使患者在移植骨髓后的相当长的时间内免疫功能严重

缺损。临床观察表明,在骨髓移植后 4~5 个月内,受者的抗体产生能力很低,T 细胞的功能缺损更为严重,表现为 T 细胞总数低下,Th/Ts 比例倒置等,即使是健康的长期存活者,其免疫功能的完全恢复也需 1~2 年的时间。如何加速骨髓移植患者免疫功能重建的过程,避免或降低移植后严重感染的发生是提高骨髓移植成功率的主要方面。

长期以来一直缺乏促进骨髓移植后免疫功能重建的积极措施。为防止移植后致死性感染,临床通常采取严密的净化措施以隔绝病原微生物的接触,避免感染的发生。近年来,造血干细胞分化、发育的研究取得了迅速的进展,对造血细胞在骨髓微环境中成熟为各种血细胞(包括淋巴细胞)的过程有了比较明确的认识,即除 T 细胞外,所有的血细胞(包括 B 淋巴细胞)都是在骨髓中分化成熟的;T 细胞在骨髓中分化为原 T 细胞(pro-T cell)后转移到胸腺,在胸腺微环境中进一步发育为成熟 T 细胞进入血流。骨髓和胸腺微环境提供了免疫细胞分化成熟的条件,微环境主要由各种体液因子和基质细胞组成。基质细胞是微环境中的固有细胞,主要有巨噬细胞、纤维母细胞、内皮细胞、上皮细胞及脂肪细胞等,它们可以通过直接接触以及释放体液因子诱导干细胞的分化、发育。微环境中的体液因子十分复杂,目前已被纯化并已知其结构的体液因子,称为细胞因子。根据它们的生物活性可以分为以下几类:白细胞介素(Interleukins, ILs),迄今报道的 IL 有 IL-1~14 共 14 种;干扰素(Interferons, IFNs),包括 IFN- α , IFN- β , IFN- γ 等;肿瘤坏死因子(Tumor Necrosis Factors, TNFs),包括 TNF- α 和 TNF- β ;集落刺激因子(Colony Stimulating Factors, CSFs),包括 G-CSF, M-CSF, GM-CSF, Multi-CSF (IL-3) 等;转化生长因子(Transforming Growth Factors, TGFs),包括 TGF- α 和 TGF- β ;干细胞生长因子(Stem Cell Factor),如 SCF。这些细胞因子的共同特点是:第一,单一刺激(如抗原,丝裂原)可使同一种细胞产生多种细胞因子。如被抗原活化的 Th 细胞可产生 IL-2, 3, 4, 5, 6, 10, IFN- γ , GM-CSF 等;另外,一种细胞因子可由多种细胞产生。如 IL-1 可由巨噬细胞、上皮细胞、内皮细胞、纤维母细胞产生。第二,它们一般为低分子量的糖肽,大多通过自分泌(Autocrine)或旁分泌(Paracrine)的方式在近距离空间内发挥作用后迅速被灭活。第三,细胞因子的分泌水平低,一般为 10^{-12} 克水平,但生物学效应极强,一般在 10^{-12} 摩尔/升的浓度下就可以表现出明显的生物学功能。第四,细胞因子须与靶细胞上高亲和力受体结合后才能发挥功能。第五,细胞因子的作用具有多效性和网络性,即一种细胞因子可以作用于不同的靶细胞,表现出不同的生物学功能;而一

种细胞的活化、分化需要受多种细胞因子的作用。各种细胞因子之间通过相互诱导,互为接续,彼此调节各自的受体和基因表达,并在生物学效应上互相协同或拮抗,构成一个相互调节的细胞因子网络(Cytokine Network),精确地调控着免疫细胞的发生及免疫应答的过程。

现已有几十种细胞因子的基因被克隆,并在大肠杆菌中获得成功的表达。利用基因工程技术大量生产具有高度活性的细胞因子,将为临床提供一大类新型免疫调节药物,极大地改变临床治疗学的面貌。目前可用于造血与免疫重建的细胞因子有:G-CSF、GM-CSF、M-CSF、IL-1~7、IL-9、IL-11、SCF、EPO等。其中IL-2、GM-CSF、G-CSF已完成了I~III期临床试验,正式应用于临床。

除上述细胞因子外,从骨髓、胸腺及脾脏等免疫器官中提取的一些低分子量(小于10 000道尔顿)的免疫核糖肽类分子,如胸腺肽、转移因子以及骨髓肽、免疫核糖核酸等在促进免疫重建和提高机体的免疫功能方面也具有明显的效果。最近从小牛骨髓中分离、纯化获得的一种5肽小分子,具有强的干细胞保护作用,已被人工合成,正在临床试用。这些小分子核糖肽类含有多种免疫调节分子,其临床应用已取得了明显的效果。根据细胞因子网络理论,它们的作用应较单一的细胞因子更为有效。最近,一种根据免疫细胞发育及免疫应答过程的特点,以及细胞因子网络作用的理论而设计的一种高效免疫增强剂——免疫核糖肽(Immunoribopeptide)已经研制成功。实验研究及初步的临床应用的结果表明,免疫核糖肽在防止肿瘤术后复发,促进骨髓移植及肿瘤放疗、化疗后的免疫功能恢复,以及慢性肝炎的治疗方面都优于单一细胞因子和其他小分子肽(如胸腺肽、转移因子等),因而有广泛的应用前景。含有多因子的免疫核糖肽的临床应用将不但在治疗实践上,而且为生物制剂类新药的开发提供了启发性的思路。此外,中药及其有效成份中有许多能明显促进免疫功能和造血功能的药物,如刺五加多糖、青蒿素、多抗甲素等能明显提高免疫功能,促进异基因骨髓移植小鼠的免疫功能重建,它们与细胞因子合用可有协同作用。因此,开发中医药宝库,开展具有我国特色的免疫药理学研究具有很好的前景。

三、我国骨髓移植与免疫重建的研究

我国临床骨髓移植的若干方面已达到了世界先进水平。1962年,北京医科大学血液学研究所即在国内首先开展异基因骨髓移植治疗血液病获得成功。近年来,应用骨髓移植治疗血液系统肿瘤及

其他血液病的工作在我国许多临床单位都相继开展,发展极为迅速。最近对晚期实体瘤患者进行大剂量放疗、化疗后,再进行自身骨髓移植的工作也取得初步成功;在防止GVHD方面也有多种独创的方法。总之,我国临床骨髓移植无论在数量上,还是在质量上都是先进的。在促进骨髓移植后造血与免疫功能重建方面,我国则相对落后。目前我国正与国外合作开展GM-CSF促进造血与免疫功能重建的研究。随着细胞因子基因工程以及免疫药理学研究的进展,结合中医药的应用,我国临床骨髓移植后免疫重建方面的研究将有重大进展。

在基础研究方面,我国在造血干细胞体外培养、电离辐射与细胞毒剂对造血干细胞的损伤作用,以及造血干细胞低温保存方面都进行了卓有成效的研究,为我国实验血液学的发展奠定了基础。但是,在异基因骨髓移植与免疫功能重建方面的实验研究则明显滞后。直到1987年,北京医科大学免疫学教研室才首先在国内应用体外去除骨髓中T细胞的方法,进行了小鼠异基因骨髓移植,获得了长期存活(200天以上)的异基因骨髓移植小鼠。此项研究在国家自然科学基金会资助下长达6年的过程,在诱导免疫耐受防止GVHD,骨髓移植后免疫缺损机制,以及应用细胞因子、中药、胸腺基质细胞促进骨髓移植后免疫重建的实验研究等方面都取得了一系列的重大成果,从而揭开了我国骨髓移植与免疫重建实验研究的新一页。由于条件的限制,此项研究只在国内少数单位开展,与世界先进水平相比,仍有较大差距。由于骨髓移植、免疫耐受与免疫功能重建的研究在理论上涉及免疫生物学中的许多重要问题,在实践上又有广阔的应用前景,因此是我国生物医学研究中亟待加强的一个重要领域。

(责任编辑 肖庆山)

(上接第46页)

跨学科课题组、研究中心、跨系委员会、综合实验室等多种形式,开展跨学科研究工作和学术交流,强化研究生教育。一些单科性学院也在向综合大学方向发展,以实现理工结合,文理渗透。如麻省理工学院,不仅建立了独立的理学院,还建立了人文社会科学学院、管理学院等。

(4)国际交流。科技的国际化已成为现代科技发展的重要趋势,广泛的国际学术交流可以使各门学科在开放的环境中不断从外界吸取新的知识,有利研究生教育质量的提高。美国大学的研究生导师都尽可能参加有关的国际会议,并通过互派访问学者,互开讲座等多种形式,开展国际合作和协作。交流培养经验和学术成果。有的还通过互派、交换研究生的办法来进行合作和交流。国际化也是培养研究生工作的一个重要趋势。

(责任编辑 冷远猷)