



## HLA抗体对肝移植术后急性排斥发生的影响

目前,人白细胞抗原(HLA)抗体的术前、术后改变对肝移植术后发生急性排斥反应有无影响仍存在争论,本研究旨在探讨术前HLA抗体水平对急性排斥的影响,并分析HLA抗体术后改变在急性排斥反应中的作用。

### 1 资料和方法

#### 1.1 临床资料

中山大学第三附属医院肝脏移植中心2005年7月至2005年12月间收治的需行肝移植患者134例,年龄31~76岁,男性125例、女性9例。其中,原发性肝细胞癌患者41例,41例中7例有输血史;良性肝脏疾病行肝移植患者93例,此93例均有输血史;乙型病毒性肝炎后肝硬化38例;急性肝功能衰竭9例;慢性重症肝炎33例;酒精性肝硬化4例;丙型病毒性肝炎后肝硬化9例。根据美国器官移植配型分级(UNOS):1级占11%、2A级占20%、2B级占24%、3级占38.5%、7级占6.5%。

#### 1.2 方法

1.2.1 治疗方式 所有患者均接受ABO血型相符合的尸肝移植,供体肝脏热缺血时间不超过5 min,供体肝脏切取采用标准腹部联合器官方式,采用UW液灌注保存供体肝脏,冷缺血时间不超过8 h;手术方式均为无静脉转流的同种异体改良背驮式肝移植。

1.2.2 HLA抗体的测定 所有患者分别于手术前、手术后第1、7、14日及第30日在空腹、静卧条件下用无抗凝真空采血管采集上肢静脉血3 ml,离心、分离后血清用于检测HLA抗体。首先采用美国One Lambda公司生产的Lambda Antigen Tray™ ELISA-LATM试剂盒筛选有无HLA抗体;对于ELISA-LATM试验反应阳性者,则继续使用ELISA-LAT1240试剂盒测定HLA抗体强度。LAT1240型试剂盒购自美国One Lambda公司,其中抗原板包被了21种HLA-A抗原、42种HLA-B抗原、15种HLA-Cw抗原、18种HLA-DR抗原和7种HLA-DQ抗原,共包被40个孔,可同时检测待测血清中的HLA I、II类可溶性IgG类HLA抗体。

HLA抗体强度计算公式:HLA抗体强度=阳性反应孔数/总试验孔数(40)×100%。

1.2.3 术中及术后免疫抑制剂使用 所有患者术中及术后免疫抑制方案均基本相同。术中均使用达利珠单抗(赛尼哌)50 mg+甲基强的松龙500 mg;术后基础免疫抑制方案为甲基强的松龙+他克莫司联合用药,具体为:术后第1~6日内静脉使用甲基强的松龙并逐日递减使用剂量、术后第7日开始改为口服甲基强的松龙48 mg/d并每3~4日递减8 mg直至使用剂量为8 mg/d时维持此剂量;术后第5日使用赛尼哌50 mg,同时加用他克莫司(FK506)并维持药物浓度(谷浓度)为10~12 ng/ml。

1.2.4 术后监测 术后监测肝功能ALT、AST、GGT、Tbil、Dbil等指标,对于可疑发生急性排斥者进行B超引导下肝组织穿刺病理检查,同时做免疫组化染色以排除病毒引起的肝炎复发,根据Banff排斥活动指数[1]明确有无发生急性排斥反应以及排斥反应发生的程度。对于轻~中度的排斥反应给予增加免疫抑制药物剂量或调整免疫抑制药物方案,提高FK506药物浓度至15~20 ng/ml,当急性排斥期过后下调至10~12 ng/ml;对于提高FK506药物浓度效果欠佳者加用霉酚酸酯2 g/d,对于伴有肾功能损害者减少用量为1 g/

d. 对于中~重度的排斥反应给予激素冲击治疗, 给予连续两日静脉推注甲基强的松龙500 mg/ d。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS11.5统计分析软件分析, 计数资料组间比较采用卡方检验和Fisher Exact检验。

## 2 结果

### 2.1 肝移植术前不同疾病的HLA抗体表达情况与术前HLA 抗体对肝移植术后急性排斥的影响

134例患者中有5例发生围手术期死亡, 排除于本研究外。其余, 85例HLA抗体阴性、44例HLA抗体阳性(表1)。

术前检查显示: 40例原发性肝细胞癌患者中, 有2例HLA抗体阳性, 阳性率5%; 89例良性肝脏疾病行肝移植患者中, 有42例HLA抗体阳性, 阳性率47.2%。统计结果显示, 肝移植术前的原发性肝癌患者HLA抗体阳性率与良性终末期肝病患者HLA抗体阳性率有显著差异( $\chi^2=20.021, P=0.000$ )。

本研究中术前85例HLA抗体阴性者, 术后发生急性排斥22例(25.9%), 44例HLA抗体阳性者, 术后发生急性排斥25例(56.8%), 显示肝移植术前HLA抗体阳性组与HLA抗体阴性组间急性排斥发生率有显著差异( $\chi^2=11.98, P=0.001$ )。

表1 术前 HLA 抗体阳性者与阴性者的基本资料比较

Tab.1 Comparison of data between patients with HLA-Ab(+) and HLA-Ab(-)

	HLA-Ab(+) (n=44)	HLA-Ab(-) (n=85)	P value
Age(year)	41.81±8.32	43.21±9.47	0.651
Hot ischemic time (min)	3.97±0.94	3.87±0.97	0.847
Cold ischemia time (h)	5.23±1.06	5.53±1.26	0.614
Anhepatic period (min)	32.41±5.27	34.14±6.31	0.516

表2 HLA 抗体对急性排斥发生的影响

Tab.2 Effects of HLA on allograft acute rejection

Time after allograft acute rejection	Preoperative HLA-Ab(-)		Preoperative HLA-Ab(+)		P
	Pre(-)→post(+)	Pre(-)→post(-)	Pre(+)->post(-)	Pre(+)->post(+)	
1-10 days	33.3%	9.2%	22.2%	37.1%	0.004
11-20 days	36.4%	4.7%	25%	23.8%	0.007
21-30 days	25%	5%	14.3%	13.3%	0.231

### 2.2 术后不同时间段HLA抗体改变对急性排斥发生的影响

在肝移植后30 d内, HLA术前阳性→术后阴性组与HLA术前阳性→术后阳性组急性排斥发生率无显著差异 [ $\chi^2=0.017$ (校正),  $P=0.895$ ]。而在肝移植后30 d内, HLA术前阴性→术后阴性组与HLA术前阴性→术后阳性组急性排斥发生率有显著差异 [ $\chi^2=8.998$ (校正),  $P=0.003$ ] , 见表2。全组病例中无1例因发生急性排斥反应而需行再次肝移植。

## 3 讨论

体内可因妊娠及输血等原因产生预存HLA抗体。由于红细胞、淋巴细胞和血小板表面存在HLA抗原, 多次输注后可使受血者体内产生HLA抗体。兰炯采等[2]认为反复有规律的受血者产生HLA 抗体的频率可达50%。目

前对于需要行肝移植治疗的良性终末期肝病患者体内预存HLA抗体情况仍较少报道, 本研究中肝移植术前HLA抗体阳性的患者均有多次血制品输注史, 其中1例患者有超过30次血制品输注史。结果显示有47.2%的良性终末期肝病患者内预存HLA抗体, 40例原发性肝癌患者中仅2例预存HLA抗体, 且此2例患者均有10次以上血制品输注史。统计结果表明, 肝移植术前的原发性肝癌患者HLA抗体阳性率与良性终末期肝病患者HLA抗体阳性率间的差异有统计学意义。本组良性终末期肝病患者均有多次血制品输注史而原发性肝癌患者中仅有少数病例有血制品输注史可能是造成此差异的主要原因之一。

目前对于肾脏移植术后HLA 抗体阳性, 急性排斥反应发生率是否会升高, 仍无较为一致的认识。Kerman [3]认为, 术后HLA 抗体阳性组移植受者急性排斥反应发生率明显提高。与肾脏移植、心脏移植不同的是, HLA 配型对肝脏移植术后排斥反应发生、移植肝脏存活率是否相关以及相关程度的认识长期以来一直存在着争论。Neumann [4]通过84例乙型病毒性肝炎后肝硬化肝移植研究认为, HLA-DR位点是否相合与肝脏移植术后排斥反应发生、移植肝脏存活率无关。甚至部分学者认为, HLA-DR位点相合者移植术后受体存活率更低, 但HLA-DR位点不相合者, 又有较高的排斥反应发生率。Sugawara [5]通过58例小儿活体肝移植研究认为HLA-A位点相合者移植术后急性排斥反应发生率较低。目前对于HLA 抗体阳性, 肝脏移植术后急性排斥反应发生率是否会升高, 仍无较为一致的认识。Donaldson[6]认为HLA抗体对于肝移植术后发生排斥反应无明确影响。但Kasahara[7]认为术后HLA抗体阳性者肝移植术后急性排斥反应发生率显著增高。

肝脏移植后发生急性排斥反应于术后早期多见, 不同文献报道的发生率有所不同, 多为30%~70%, 急性排斥反应最早可发生于术后第2日, 平均发生于术后5~30d, 高峰是术后的第1个周末, 其发生率随时间推移而下降, 也有术后数月发生者。故本研究将术后HLA抗体的检测时间点分别设为术后第1、7、14日及第30日, 以了解急性排斥反应时HLA抗体的对比变化情况。

急性排斥反应发生时, 移植肝脏肝细胞表面的HLA-I类抗原与胆管上皮细胞表达HLA-II类抗原可与受者体内已存在的HLA抗体结合形成抗原抗体复合物并激活补体经典途径, 通过补体级联反应形成功膜复合物, 使得移植肝脏肝细胞与胆管上皮细胞破坏裂解。另一方面, HLA-I类抗原与已存在的HLA抗体结合形成抗原抗体复合物, 激活补体, 再与补体活化的裂解片段C3b形成抗原-抗体-C3b复合物; 此复合物中的C3b与吞噬细胞表面的C3b受体结合, 进而促使吞噬靶细胞。Ge [8]的研究认为, 移植肝内的胆管上皮细胞损伤由受者体内预存的HLA抗体有关, 肝移植术前HLA抗体阳性与移植后急性排斥反应发生有关, 但HLA抗体与肝移植后的生存率与胆管炎发生无关。

综上所述, 我们认为, 术前HLA抗体阴性而术后HLA抗体转为阳性与术前HLA抗体阳性术后HLA抗体较长时间呈阳性可能是肝移植术后发生急性排斥反应的原因之一。

#### 参考文献:

- [1]An International Panel. Banff schema for grading acute liver allograft rejection: an international consensus document[J]. Hepatology, 1997, 25: 658-63.
- [2]杨天楹, 杨成民, 田兆嵩. 临床输血学[M]// 兰炯采. 人类白细胞抗原. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1993: 122.
- [3]Kerman RH, Katz SM, Van Buren CT, et al. Post transplant immune monitoring of anti-HLA antibody[J]. Transplant Proc, 2001, 33: 402.
- [4]Neumann UP, Langrehr JM, Naumann U, et al. Impact of HLA- compatibilities in patients undergoing liver transplantation for HBV-cirrhosis[J]. Clin Transplant, 2002, 16(2): 122-9.
- [5]Sugawara Y, Mizuta K, Kawarasaki H, et al. Risk factors for acute rejection in pediatric living related liver transplantation : the impact of HLA matching[J]. Liver Transplant, 2001, 7: 769-73.
- [6]Donaldson PT, Williams R. Cross-matching in liver transplantation[J]. Transplantation, 1997, 63(6): 789.

[7]Kasahara M, Kiuchi T, Takakura K, et al. Postoperative flow cytometry crossmatch in living donor liver transplantation: clinical significance of humoral immunity in acute rejection[J]. Transplantation, 1999, 67(4): 568.

[8]Ge X, Ericzon BG, Nowak G, et al. Are preformed antibodies to biliary epithelial cells of clinical importance in liver transplantation[J]? Liver Transpl, 2003, 9(11): 1191-8.

---

[回结果列表](#)