



## 群体反应性抗体技术及HLA配型在1 700例肾移植中的应用研究

补体依赖性细胞毒作用(complement-dependent cytotoxicity, CDC)交叉试验作为肾移植前组织相容性试验敏感性低, CDC相合的肾移植仍有可能发生超急性排斥反应或加速性排斥反应[1][2], 新型免疫抑制剂也不能完全克服这类严重的排斥反应。我们自1991年起, 在同种异体肾移植术前应用群体反应性抗体(panel reactive antibody, PRA)、HLA配型技术, 杜绝了肾移植术后超急性排斥反应, 降低了急性排斥反应发生率, 提高了人/肾长期存活率。

### 1 资料与方法

#### 1.1 临床资料

本研究共涉及2 123个病例, 其中男1 486例, 女637例。年龄7~84岁。原发病慢性肾小球肾炎尿毒症1925例, 糖尿病肾病128例, 高血压病肾病 13例, 多囊肾并尿毒症28例, 尿酸性肾病9例, 双肾多发性结石8例, 红斑狼疮性肾病12例。术前血液透析1 809例, 腹膜透析263例, 未透析者51例, 首次肾移植2 012例, 第2次肾移植108例, 第3次肾移植3例。观察两组肾移植术后免疫指标变化, 近期急性排斥反应发生率以及HLA-A、B、DR位点对长期存活的影响。将运用PRA检测、HLA组织配型的1 700例患者为第一组, 未采用PRA、HLA组织配型的423例患者为第二组。

#### 1.2 PRA检测方法及步骤

1.2.1 患者标本 抽取静脉血2 ml, 1 000 r/min离心5 min, 吸取血清置Backman管内, 4 °C备用。使用包含HLA-A、B座位35个抗原, DR、DQ座位8个抗原的30份配组淋巴细胞, 含广东汉族人群HLA连锁不平衡单倍型A2、B46、DW9、DQ9, 留有空白基因频率。

1.2.2 冷冻淋巴细胞制备 用20%DMSO-RPMI1640将配组淋巴细胞制盘, 置-80 °C, 随时取用。

1.2.3 结果判定及标准 细胞死亡率>40%为高敏感性, PRA强度用阳性百分数表示。使用计算机进行反应强度、反应格局和特异性鉴定。

#### 1.3 HLA配型方法

采用特异性单克隆抗体HLA-I、II类抗体分型盘(美国ONELAMBDA公司产品), 包括A座位25个、B座位42个、DR座位33个和DQ座位6个特异性。依次在分型盘每个微孔中加无菌水, T或B淋巴细胞和补体各1 μl, 置25~30 °C反应60 min后荧光染色固定, 立即在显微镜下读数。

#### 1.4 免疫抑制措施

1978~1985年术后用药为硫唑嘌呤(azathioprine, Aza)、环磷酰胺(cyclophosphamide, CTX)、泼尼松(prednisone, Pred)。1985~1990年术中和术后连续3 d静脉滴注环孢素A(cyclosporine A, CsA)术后应用Aza、Pred、CTX、CsA。1990年以后术中和术后连续3 d静脉滴注MP, 术后应用Aza、Pred、霉酚酸酯(mycoenolate mofetil, MMF)、CsA、FK506、抗胸腺细胞球蛋白(antithymocyte globulin, ATG)、抗淋巴细胞球蛋白(antilymocyte globulin, ALG)、OKT3。

## 2 结果

第一组1 700例患者同时采用PRA、HLA组织配型和CDC检测, 其中89例受者PRA阳性(23%~85%), 移植前均采取血浆置换3~5次, PRA转阴或降低至40%以下, HLA抗原3~6个位点相合。肾移植术后一个月内CsA用量为5~7 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 移植肾功能恢复时间2~16 d, 平均5 d, 未发生超急性排斥反应。发生急性排斥反应252例(14.8%), 经甲基泼尼松龙(methylprednisolone, MP)0.5 g×3 d冲击193例逆转, 59例应用OKT3 5 mg静脉滴注, 连续3~7 d, 32例逆转, 18例摘除移植肾, 7例死于严重肺部感染, 4例死于全身衰竭。1年人/肾存活率高达98.6%/96.7%, 3年人/肾存活率93.1%/87.3%, 5年人/肾存活率88.1%/83.6%。第二组采用CDC交叉配型共完成423例, CDC试验结果为1%~17%。肾移植术后CsA用量为8~12 mg·kg<sup>-1</sup>·d<sup>-1</sup>, 移植肾功能恢复时间4~30 d, 平均13 d, 发生超急性排斥反应者9例(2.1%), 急性排斥反应198例(46.8%), 1年人/肾存活率86.7%/76.3%, 3年人/肾存活率72.5%/67.9%, 5年人/肾存活率69.5%/59.3%。两组肾功能恢复时间、排斥反应及人肾存活率的差异具有显著性(P<0.001)(表1)。

表1 PRA、HLA配型前后移植效果的比较

**Tab.1 Results of transplant with and without PRA screening and HLA typing**

| Item   | Before tissue match of PRA<br>(423 cases in 1985-1990) | After tissue match of PRA<br>(1 700 cases in 1991-2001) |
|--|--|---|
| Dosage of CsA (mg·d <sup>-1</sup> ·k <sup>-1</sup> ) | 8-12   | 5-7   |
| Kidney function recovery time(d)                     | 4-8 (12.4±3.2)   | 2-16 (5.4±2.10)*  |
| Hyper-acute rejection(%)                             | 2.1  | 0   |
| Acute rejection(%)                                   | 46.8   | 14.8*   |
| 1-year patient survival rate(%)                      | 86.7   | 98.6*   |
| 1-year graft survival rate(%)                        | 76.3   | 96.7*   |

\*P<0.001 before tissue match of PRA vs after tissue match of PRA

## 3 讨论

### 3.1 影响人、肾存活率的因素

合理应用免疫抑制剂对提高肾移植存活率至关重要。从1978~1985年常规应用Aza、CTX加Pred, 急性排斥反应的发生率较高, 同时由于激素的用量较大, 出现并发症较多, 死亡率高。自1985年应用CsA以后, 移植肾1年存活率明显提高[3]。CsA是一种较理想的免疫抑制剂, 但肝、肾毒性较大, 尤其静脉滴注CsA后肾功能恢复较慢。1992年始预防性应用ATG(或ALG), 术后尿量多, 肾功能在1周内恢复正常者占90%以上[4], 肾功能正常后采用CsA、Aza(或MMF)和Pred三联用药, 取得较好效果。第一组患者肾功能恢复从原来的4~30 d下降到2~16 d, 免疫抑制剂的副作用大为减轻。

降低术后并发症是提高肾移植存活率的重要因素[5], 感染是肾移植术后的常见并发症, 也是造成肾移植受者死亡的主要原因。因此, 术前重视清除受者的内源性感染, 术中严格无菌操作, 术后伤口充分引流, 实施消毒隔离措施, 应用广谱抗生素等。

组织配型对肾移植术后排斥及长期存活率有较大的影响。Takemoto[6]报道 PRA阴性配型好的移植肾长

期存活率明显高于配型不佳者。1978~1990年第二组未检测PRA，在423例中就发生9例超急性排斥反应，而急性排斥反应发生率高达46.8%。1991年以后开展PRA、HLA组织配型，在1700例中未发生超急性排斥反应，急性排斥反应发生率14.8%。提示PRA和HLA配型对肾移植手术近远期效果的影响是非常重要的。

### 3.2 PRA、HLA与肾移植的关系

PRA、HLA与肾移植关系密切。20世纪60年代已经发现，HLA-A、B位点相合的肾移植存活率高，B位点比A位点更重要。随后又发现HLA-I类抗原在肾脏所有组织均有表达，HLA-II类抗原仅在肾小球、肾小管、肾内皮细胞等组织表达，DR位点比B位点更重要[7][8]。Sanfilippo等[9]分析3800例尸肾移植后发现，首次移植受者PRA>50%时，对移植肾1年存活率和血清肌酐有的不良影响；移植物丧失或无功能常发生在高PRA的受者。第一组中89例PRA阳性受者均有良好的HLA配型，PRA>30%时术前均予血浆置换治疗3~5次，术后采用四联用药，但仍有16例发生严重的排斥反应，经用OKT35 mg，连续3~7 d静脉滴注，11例逆转，5例失败。可见，PRA是移植免疫学中的高危因素，与严重排斥反应及长期存活密切相关，高PRA对移植肾将造成极大的威胁[10]，但是我们认为PRA阳性并非是移植的绝对禁忌，患者经适当的处理，例如采取血浆置换、EPO、免疫吸附或免疫抑制治疗，可使PRA水平降低。一旦PRA水平下降，可以重新获得移植的机会。第一组有6例PRA 50%~85%，经血浆置换3~5次，3例转阴，3例PRA仍为25%、31%、36%。另外6例均选择良好的HLA-A、B、DR配型后接受肾移植手术，其中3例发生严重的排斥反应，经给予OKT 35 mg，连续3~7 d静脉滴注后2例逆转，1例失败，摘除移植肾；该6例患者均获得随访，5例目前存活，1~3年者4例，存活最长的1例已超过6年。

### 3.3 PRA、HLA配型与排斥反应

我国开展肾移植手术已30多年，但目前仍有一部分移植中心在临床上仅仅依靠ABO血型 and CDC交叉配合试验来选择供受者。从移植免疫角度考虑，选择HLA配型理想、PRA阴性的供受者是提高长期存活率的关键，可杜绝超急性排斥反应，减少急性排斥的发生率。我们1978~1990年未做PRA配型，423例中发生超急性排斥反应9例(2.1%)、急性排斥反应198例(46.8%)；从1991年起开展PRA、HLA配型工作1700例患者中未发生超急性排斥反应，而急性排斥反应发生率下降到14.8%，1年人/肾存活率从86.7%/76.3%提高到98.6%/96.7%。降低了排斥反应发生率，提高了人/肾长期存活率。理想的HLA配型，尤其是DR位点的相配可使存活率提高10%~30%，对再次肾移植和高危患者来说，这一点尤为重要[11][12]。

#### 参考文献：

[1] Boyan CF, Aeder MI, Helling TS, et al. Influence of race, PRA level and gender on the incidence of positive donor-specific preliminary T cell crossmatch[J]. Transplant Proc, 1992, 24: 2517-9.

[2] Schreibe M, Huls S, Kuhn R, et al. Causes of early graft failure at less than 12 months after renal transplantation[J]. Transplant Proc, 1993, 25: 2614-9.

[3] Lorber MI, Buren CT, Fkchener SM, et al. Hepatobiliary and pancreatic complications of cyclosporine therapy in 466 renal transplant recipients[J]. Transplantation, 1987, 43: 35-41.

[4] 于立新, 付绍杰, 徐健, 等. 肾移植术后早期小剂量应用抗胸腺淋巴细胞球蛋白的临床经验[J]. 中华器官移植杂志, 1998, 19(1): 106-8.

Yu LX, Fu SJ, Xu J, et al. The application of small dose of anti-thymocyte globulin to 200 cadaveric kidney transplant recipients in early postoperative period[J]. Chin J Organ Transplant, 1998, 19(1): 106-8.

[5] 于立新, 徐健, 白喜文, 等. 尸体肾移植746次的临床研究[J]. 第一军医大学学报, 1996, 16(1): 2-3.

[6] Takemoto S, Terasaki PI, Cecka JM, et al. Survival of nationally shared, HLA-matched kidney transplantation from cadaveric donors[J]. N Engl J Med, 1992, 327(12): 834-9.

[7] Muller Steinhardt M, Fricke L, Kirchner H, et al. Monitoring of anti-HLA class I and II antibodies by flow cytometry in the patients after first cadaveric kidney

transplantation[J]. Clin Transpl, 2000, 14(1): 79-84.

[8] Freedman BI, Thacker LR, Heise ER, et al. HLA-DQ matching in cadaveric renal transplantation[J]. Clin Transplant, 1997, 11(5 Pt 2): 480-4.

[9] Sanfilippo FP, Nocera A. The effect of first cadaver renal transplant HLA-A, B match on sensitization levels and retransplant rates following graft failure[J]. Transplantation, 1989, 43:240.

[10] Mongkolsuk T, Sumetrhkul V, Sujirachato K, et al. Panel reactive antibodies in post-kidney transplantation[J]. J Med Assoc Thai, 1997, 80 (Suppl 1):52-54.

[11] Opelz G, Wujciak T, Mytilineos J, et al. Revisiting HLA matching for kidney transplantation[J]. Transplant Proc, 1993, 25: 173-5.

[12] Leivestad T, Reisaeter AV, Brekkie IB, et al. The role of HLA matching in renal transplantation: experience from one center[J]. Rev Immunogenet, 1999, 1(3): 343-50.

#### 参考文献:

[1] Boyan CF, Aeder MI, Helling TS, et al. Influence of race, PRA level and gender on the incidence of positive donor-specific preliminary T cell crossmatch[J]. Transplant Proc, 1992, 24: 2517-9.

[2] Schreibe M, Huls S, Kuhn R, et al. Causes of early graft failure at less than 12 months after renal transplantation[J]. Transplant Proc, 1993, 25: 2614-9.

[3] Lorber MI, Buren CT, Fkchener SM, et al. Hepatobiliary and pancreatic complications of cyclosporine therapy in 466 renal transplant recipients[J]. Transplantation, 1987, 43: 35-41.

[4] 于立新, 付绍杰, 徐 健, 等. 肾移植术后早期小剂量应用抗胸腺淋巴细胞球蛋白的临床经验[J]. 中华器官移植杂志, 1998, 19(1): 106-8.

Yu LX, Fu SJ, Xu J, et al. The application of small dose of anti-thymocyte globulin to 200 cadaveric kidney transplant recipients in early postoperative period[J]. Chin J Organ Transplant, 1998, 19(1): 106-8.

[5] 于立新, 徐 健, 白喜文, 等. 尸体肾移植746次的临床研究[J]. 第一军医大学学报, 1996, 16(1): 2-3.

[6] Takemoto S, Terasaki PI, Cecka JM, et al. Survival of nationally shared, HLA-matched kidney transplantation from cadaveric donors[J]. N Engl J Med, 1992, 327(12): 834-9.

[7] Muller Steinhardt M, Fricke L, Kirchner H, et al. Monitoring of anti-HLA class I and II antibodies by flow cytometry in the patients after first cadaveric kidney transplantation[J]. Clin Transpl, 2000, 14(1): 79-84.

[8] Freedman BI, Thacker LR, Heise ER, et al. HLA-DQ matching in cadaveric renal transplantation[J]. Clin Transplant, 1997, 11(5 Pt 2): 480-4.

[9] Sanfilippo FP, Nocera A. The effect of first cadaver renal transplant HLA-A, B match on sensitization levels and retransplant rates following graft failure[J]. Transplantation, 1989, 43:240.

[10] Mongkolsuk T, Sumetrhkul V, Sujirachato K, et al. Panel reactive antibodies in post-kidney transplantation[J]. J Med Assoc Thai, 1997, 80 (Suppl 1):52-54.

[11] Opelz G, Wujciak T, Mytilineos J, et al. Revisiting HLA matching for kidney transplantation[J]. Transplant Proc, 1993, 25: 173-5.

[12] Leivestad T, Reisaeter AV, Brekkie IB, et al. The role of HLA matching in renal transplantation: experience from one center[J]. Rev Immunogenet, 1999, 1(3): 343-50.

---

[回结果列表](#)