

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

于立新¹,姚冰¹,叶桂荣¹,杜传福¹,邓文锋¹,徐健¹,马俊杰¹,付绍杰¹,萧露露²(¹第一军医大学南方医院肾移植科,广东广州 510515;²广州器官移植配型中心,广东广州 510095)

摘要:目的 探讨群体反应性抗体(panel reactive antibody, PRA)、HLA 配型技术对肾移植近远期的效果。方法 对拟行肾移植的患者运用 PRA 检测、HLA 组织配型,要求 HLA 抗原 3~6 个位点相合,PRA 阳性(20%以上)给予 3~5 次血浆置换,共 1 700 例作为第一组,未采用 PRA、HLA 组织配型的 423 例患者为第二组。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。结果 第一组肾移植术后环孢素 A(cyclosporine A, CsA)用量减至 5~7 mg·kg⁻¹·d⁻¹,移植肾功能恢复时间 2~16 d,平均 5 d,均未发生超急性排斥反应,发生急性排斥反应 252 例(14.8%),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%。第二组肾移植术后 CsA 用量 8~12 mg·kg⁻¹·d⁻¹,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%。结论 PRA 阴性加良好的 HLA 配型可杜绝超急性排斥反应的发生,降低急性排斥反应发生率,提高人/肾长期存活率。

关键词:肾移植;群体反应性抗体;人白细胞抗原;排斥反应

中图分类号:R699.2 文献标识码:A 文章编号:1000-2588(2002)04-0360-03

Panel reactive antibody screening and human leukocyte antigen typing in 1 700 cases of renal transplantation

YU Li-xin¹, YAO Bing¹, YE Gui-rong¹, DU Chuan-fu¹, DENG Wen-feng¹, XU Jian, MA Jun-jie¹, FU Shao-jie¹, XIAO Lu-lu²

¹Department of Kidney Transplantation, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; ²Guangzhou Organ Transplantation and Tissue Typing Center, Guangzhou 510095, China

Abstract: Objective To evaluate the role of panel reactive antibody (PRA) screening and human leukocyte antigen (HLA) typing in renal transplantation. **Methods** PRA screening and HLA typing were performed in 1 700 patients eligible for the first group of renal transplantation who had 3 to 6 HLA matches in HLA-A, B and DR with the donor, and in cases positive for PRA, plasma exchange was conducted. Another 423 patients who did not receive PRA screening or HLA typing constituted the second group. The changes of immune variables, incidences of acute rejection and the effect of HLA-A, B, DR matching on long-term graft survival were observed. **Results** In 1 700 cases of group 1, post-transplantation CsA dose was reduced to 5 to 7 mg·kg⁻¹·d⁻¹ and the graft function recovery time ranged from 2 to 16 d, averaging 5 d. Acute graft rejection occurred in 252 (14.8%) cases, but no hyper-acute rejection was observed. The 1-, 3- and 5-year patient/graft survival rates were 98.6%/96.7%, 93.1%/87.3% and 88.1%/83.6% respectively. In group 2, CsA dose ranged from 8 to 12 mg·kg⁻¹·d⁻¹ and the graft function recovery time was 4 to 30 d, averaging 13 d. Hyper-acute rejection occurred in 9 (2.1%) and acute rejection in 198 (46.8%) cases, and the 1-, 3- and 5-year patient/graft survival rates were 86.7%/76.3%, 72.5%/67.9% and 69.5%/59.3% respectively. **Conclusions** Negative PRA and good HLA matching can eliminate the incidences of hyper-acute rejection, decrease the rate of acute rejection and improve both patient and graft survival rates.

Key words: kidney transplantation; panel reactive antibody; human leukocyte antigen; graft rejection

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

收稿日期:2001-12-14

作者简介:于立新(1950-),男,河北黄骅人,1975 年毕业于第一军医大学,主任医师,教授,电话:020-85141720

例,腹膜透析263例,未透析者51例,首次肾移植2012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1700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检测方法步骤

1.2.1 患者标本 抽取静脉血2ml,1000 r/min离心5min,吸取血清置Backman管内,4℃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℃,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1μl,置25~30℃反应60min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3d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3d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。

1.5 统计学分析

应用SPSS10.0软件,计量资料行t检验,率的比较行 χ^2 检验。

2 结果

第一组1700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⁻¹·d⁻¹,移植肾功能恢复时间2~16d,平均5d,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×3d冲击193例逆转,59例应用OKT3 5mg静脉滴注,连续3~7d,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⁻¹·d⁻¹,移植肾功能恢复时间4~30d,平均13d,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

Item	Before tissue match of PRA (423 cases in 1985-1990)	After tissue match of PRA (1700 cases in 1991-2001)
Dosage of CsA (mg·d ⁻¹ ·k ⁻¹)	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4~30d下降到2~16d,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 1 700 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 3 800 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, Sumethkul V, Sujrachato 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.