

## HLA抗体对肝移植术后急性排斥发生的影响

陈伟<sup>1</sup>, 陈规划<sup>2</sup>, 陆敏强<sup>2</sup>, 杨扬<sup>2</sup>, 蔡常洁<sup>2</sup>, 侯宝华<sup>1</sup>, 林叶<sup>1</sup>, 张伟东<sup>3</sup>, 肖露露<sup>3</sup>(<sup>1</sup>广东省人民医院肝胆外科, 广东广州 510080; <sup>2</sup>中山大学附属第三医院器官移植研究所肝脏移植中心, 广东广州 510630; <sup>3</sup>广州器官移植配型中心, 广东广州 510095)

**摘要:**目的 探讨肝移植手术前后 HLA 抗体变化对移植肝脏急性排斥的影响。方法 134 例患者接受改良背驮式肝移植, 分别于手术前、手术后第 1、7、14、30 日通过酶联免疫吸附(ELISA)法检测 HLA 抗体, 通过 B 超引导下肝穿刺病理检查明确有无急性排斥, 观察肝移植前后 HLA 抗体变化对急性排斥发生的影响。结果 术前 HLA 抗体阳性组急性排斥发生率(56.8%)显著高于术前 HLA 抗体阴性组(25.9%) ( $P=0.001$ ); 术前 HLA 抗体阴性而术后转为阳性组急性排斥发生率与术前术后 HLA 抗体均为阴性组有显著差异( $P=0.003$ )。结论 患者术前 HLA 抗体阳性可能是引起肝移植术后急性排斥的原因之一, 患者术后 HLA 抗体持续阳性与急性排斥的发生密切相关。

**关键词:**肝移植; HLA 抗体; 急性排斥反应

**中图分类号:** R657.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4254(2006)06-0774-03

## Effects of the HLA antibodies on allograft acute rejection after cadaveric liver transplantation

CHEN Wei<sup>1</sup>, CHEN Gui-hua<sup>2</sup>, LU Min-qiang<sup>2</sup>, YANG Yang<sup>2</sup>, CAI Chang-jie<sup>2</sup>, HOU Bao-hua<sup>1</sup>, LIN Ye<sup>1</sup>, ZHANG Wei-dong<sup>3</sup>, XIAO Lu-lu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Hepatobiliary Surgery, People's Hospital of Guangdong Province, Guangzhou 510080, China; <sup>2</sup>Liver Transplantation Center, Institute of Organ Transplantation, Third Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Guangzhou 510630, China; <sup>3</sup>Guangzhou Tissue Typing Center, Guangzhou 510095, China

**Abstract:** **Objective** To evaluate the effect of perioperative HLA antibody changes on acute allograft rejection in cadaveric liver transplantation. **Methods** Totally 134 patients received modified piggyback liver transplantation and enzyme-linked immunosorbent assay was performed for HLA antibody detection before and the 1, 7, 14 and 30 days after operation. B ultrasound-guided liver biopsy was employed for diagnosis of acute allograft rejection, and the perioperative changes of HLA antibodies were evaluated for their effect on allograft acute rejection. **Results** Of the 44 recipients with preoperative positivity for HLA antibodies, acute rejection occurred in 56.8% of the patients, as compared with 25.9% in those negative for HLA antibody ( $P=0.001$ ). The patients who became positive for HLA antibody postoperatively had a rate of acute rejection of 60%, which was significantly higher than that in those persistently negative for HLA antibody (18.6%,  $P=0.003$ ). **Conclusion** HLA antibody positivity before transplantation may contribute to acute rejection episode in liver transplantation, and persistent posttransplant HLA antibody positivity is closely associated with the occurrence of acute rejection.

**Key words:** liver transplantation; HLA antibody; acute rejection

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。

收稿日期:2006-01-10

基金项目:广东省自然科学基金(5300816);广东省科技计划项目(2002B30207-3)

Supported by Natural Science Foundation of Guangdong Province (5300816) and Science and Technology Development Program of Guangdong Province (2002B30207-3)

作者简介:陈伟(1971-),硕士,主治医师,电话:020-33336939

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<sup>[1]</sup>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)。

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

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( $\chi^2=11.98, P=0.001$ )。

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。

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

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<sup>[2]</sup>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<sup>[3]</sup>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<sup>[4]</sup>通过 84 例乙型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<sup>[5]</sup>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<sup>[6]</sup>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<sup>[7]</sup>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 5~30 d, 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<sup>[8]</sup>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.