

· 论 著 ·

肾移植受者术前群体反应性抗体筛查探讨

刘旭华¹, 曲青山², 陈 鹏²

(河南省郑州人民医院: 1. 检验科; 2. 器官移植科 450003)

摘要:目的 探讨肾移植受者术前群体反应性抗体(PRA)监测对移植肾存活及急性排斥反应发生率的影响。方法 回顾性分析 2003 年 4 月至 2009 年 12 月于该院行肾移植术的患者共计 1 430 例次, 根据术前 PRA 检测结果分为阴性组(PRA<10%) 和致敏组(PRA≥10%), 分析两组间术后一年急性排斥反应发生率和肾存活率的差异; 结合临床资料, 对输血、妊娠、移植术史等致敏相关因素进行分析。结果 肾移植受者术前 PRA 阳性率为 15.0%, 不同性别阳性率差异有统计学意义($P=0.029$); 阴性组和致敏组急性排斥反应发生率分别为 25.1% 和 49.2%, 一年肾存活率分别为 97.1% 和 92.1%, 差异均有统计学意义($P=0.000$ 和 $P=0.004$)。结论 PRA 阳性是移植肾存活和急性排斥发生的危险因素, 输血、多次妊娠、有移植史可导致受者 PRA 阳性; 避免供受者间的 HLA 位点错配和减少输血是降低 PRA 阳性率的有效手段。

关键词:肾移植; HAL 抗原; 群体反应性抗体

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.13.024

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)13-1454-02

Discussion of screening panel reactive antibody in preoperative kidney transplant recipients

Liu Xuhua¹, Qu Qingshan², Chen Peng²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Organ Transplantation, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, China)

Abstract: Objective Discussing the effect of monitoring preoperative renal transplant recipients reactive antibody (PRA) on survival of renal transplant and acute rejection rate. **Methods** Using retrospective analysis of 1 076 cases of kidney transplantation recipients applied ELISA method to test PRA from April 2003 to December 2009 in our hospital 1 430 times. And they are divided into PRA-negative group and the sensitizing group according to PRA levels (<10% and ≥10%). Collecting and analyzing the differences of survival of renal transplant and acute rejection rate between two groups during one year, after combination of clinical data, related sensitizing factors such as blood transfusions, pregnancy, history of transplantation are analyzed. **Results** PRA positive rate of preoperative renal transplant recipients is 15.0%, and positive rate of different sexes is statistically significant ($P=0.029$); The acute rejection rate of PRA-negative group and the sensitizing group is respectively 25.1% and 49.2%, and kidney survival rates after one year are 97.1% and 92.1%, which are statistically significant ($P=0.000$ and $P=0.004$). **Conclusion** PRA positive is a risk-causing factor in survival of renal transplant and acute rejection rate. And blood transfusion, multiple pregnancy, history of transplant can lead to positive PRA of the recipients; Avoiding HLA locus mismatch between donors and recipients and reduction of transfusion are the effective means to reduce PRA positive rate.

Key words: kidney transplantation; HAL antigens; panel reactive antibody

群体反应性抗体(panel reactive antibody, PRA)是一组特异性抗人类白细胞抗原(human leucocyte antigen, HLA)抗体, 包括 HLA-I 类和 II 类抗体。肾移植受者体内预存的 PRA 可引发各种类型排斥反应, 严重影响移植肾长期存活^[1-2]。确定 PRA 抗体水平和特异性, 对指导临床选择合适供者、监测免疫状态具有重要意义。本院自 2003 年以来对所有肾移植受者于手术前进行 PRA 检测, 现将 2003 年 4 月至 2009 年 12 月 PRA 筛查分析结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本院 2003 年 4 月至 2009 年 12 月等待肾移植手术受者 1 430 例次, 男 1 020 例次、女 410 例次, 年龄 14~72 岁, 平均(34.7±13.2)岁, 其中初次移植受者 1 210 例次, 再次肾移植受者 220 例次。所有病例均于术前采集静脉血 2 mL, 透析病例透后最少 4 h 后采血, 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清备用。PRA<10% 为阴性组, PRA≥10% 为致敏组, 统计两组术后一年急性排斥反应发生率和肾存活率。

1.2 仪器与试剂 ELX800NB 型酶标仪由美国 BioTek 公司提供; LATM 筛查板和 LAT1240 特异性板及 PRA 分析软件

由美国 One Lambda 公司提供。

1.3 检测方法 两种试剂均采用 ELISA 法, 用不同的 HLA 抗原包被微孔板, 检测人体血清中抗 HLA-IgG 抗体。LATM 为 I 类混合抗原和 II 类混合抗原, 为定性检测; LAT1240 由 I 类 A、B、C 抗原和 II 类 DR、DQ 抗原组成, 可进行定性与定量分析。严格按照说明书操作, 反应完成后于 ELX800NB 型酶标仪 630 nm 波长下读取结果, 软件自动计算 PRA 阳性强度, 分析阳性抗体特异性。PRA≥10% 判为阳性, <10% 判为阴性, 其中 PRA 10%~50% 为轻度致敏, PRA>51% 为高度致敏。

1.4 急性排斥反应的诊断 包括组织病理学检查证实和临床诊断两部分, 病理学诊断符合急性排斥病理表现(Banff 97 标准); 临床诊断为移植后肌酐浓度较基础值升高 25% 以上且排除外科因素如梗阻等和药物影响, 伴或不伴有移植肾区疼痛、血尿、少尿、发热、血压升高, 且经抗排斥反应治疗后肾功能恢复正常。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件。计数资料以百分数表示, 率的比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 PRA 检测结果

2.1.1 两种试剂检测结果 LATM 筛查 1 430 例次标本阳性例数为 221 例,经 LAT1240 确认 214 例,两种试剂检测阳性结果相符率为 96.8%。肾移植受者 PRA 阳性率为 15.0% (214/1 430),阳性强度 10%~100%(轻度致敏 130 例,高度致敏 84 例),有 188 例能准确分析抗体特异性,其中 6 例高致敏受者抗体特异性是通过不同时点动态监测于抗体水平波动至相对较低水平时确定的。

2.1.2 不同性别阳性率 男性为 13.7%(140/1 020),女性为 18.3%(75/410);二者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 4.775, P = 0.029$)。

2.1.3 首次移植和再次移植阳性率 首次移植和再次移植阳性率分别为 12.9%(156/1 208)和 27.8%(59/212),二者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 31.231, P = 0.000$)。再次移植患者中有完整首次移植配型资料者 144 例,其中 PRA 阳性 36 例。按 HLA 抗原错配数 0~3 MM 和 4~6 MM 两组,其中 0~3 MM 组阳性率为 22.0%(29/132),4~6 MM 组阳性率为 58.3%(7/12),两组比较差异有统计学意义($\chi^2 = 7.758, P = 0.005$)。

2.1.4 有输血史者和无输血史者阳性率 有输血史者和无输血史者阳性率分别为 24.1%(53/220)和 13.5%(163/1 210),二者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 16.372, P = 0.000$)。

2.1.5 不同妊娠史者阳性率 有妊娠史者和无妊娠史者阳性率分别为 19.2%(69/359)和 13.7%(7/51),二者比较差异无统计学意义($\chi^2 = 0.893, P = 0.345$)。多次妊娠史(至少 2 次)者和非多次妊娠史(不超过 1 次)者阳性率分别为 22.0%(59/268)和 11.3%(16/142),二者比较差异有统计学意义($\chi^2 = 7.173, P = 0.007$)。

2.2 1 076 例受者术后一年移植肾存活和急性排斥反应结果 见表 1。

表 1 受者术后一年肾存活率和急性排斥反应发生率比较

组别	n	一年肾存活率(%)	急性排斥反应发生率(%)
阴性组	950	97.1*	25.1*
致敏组	126	92.1	49.2

*: $P < 0.05$, 与致敏组比较。

3 讨 论

目前,临床普遍以 PRA 评估肾移植受者术前致敏状态,其水平高低标志着致敏程度的强弱^[3]。肾移植受者由于输血、妊娠、移植术史等原因均可导致体内抗 HLA 抗体的产生而处于致敏状态,随着肾移植手术在临床的广泛开展,致敏受者的增加已成为影响肾移植成功的重要因素^[4-5]。器官共享联合网(UNOS)把 PRA 作为影响移植肾长期存活的 5 个最重要因素之一,认为比 HLA-B 及 DR 的配型还重要。而移植后急性排斥反应是导致早期肾移植失败的主要原因之一^[6]。因此本研究选择术后一年肾存活率和急性排斥反应发生率进行分析,表 1 显示:阴性组与致敏组之间两指标差异均有统计学意义($P < 0.05$)。术前通过 PRA 筛查,科学评估受者的致敏状态,为致敏患者选择不含相应靶抗原的供体,已证明是预防排斥反应的有效措施^[7]。肾移植术后不同免疫抑制方案对一年肾存活率和排斥反应发生率的影响,限于条件本研究未进行讨论。

PRA 筛查早期主要应用补体依赖性淋巴细胞毒(CDC)方

法,能检出补体结合的抗体,但阳性率较低,易受 IgM 类抗体的干扰且不能确定抗体的特异性^[8];ELISA 可测定补体结合和非补体结合的 HLA 抗体,结果所受影响因素少,能检出 HLA-I 类和 II 类抗体,阳性率较高,大部分能确定血清中 HLA 抗体特异性。本研究显示,LATM 和 LAT1240 有较高的阳性符合率。因此在临床检测 PRA 可用 LATM 进行筛查,阳性者再用 LAT1240 确定抗体特异性。本研究中,部分高度致敏受者不能确定抗体的特异性,其原因可能是高致敏者血清交叉反应复杂,也是高致敏受者配型比较困难的原因之一^[9]。部分不能确定抗体特异性的高致敏受者经血浆置换、免疫吸附等治疗,可使体内 PRA 水平降低从而检测出抗体的特异性,达到成功配型的目的^[10]。本研究也观察到 6 例高致敏受者通过不同时点动态监测,由于抗体自身的波动而在水平相对较低时检测出其特异性。因此,笔者认为:高致敏受者术前应定期进行 PRA 检测。

输血、妊娠、移植等是公认的使移植受者血清 PRA 升高的危险因素。本研究证实有输血史和移植史受者血清 PRA 水平升高。有无妊娠史对 PRA 的影响则无统计学意义($P > 0.05$),原因可能与样本来源单一有关;而多次妊娠史受者和非多次妊娠史受者比较差异有统计学意义($P < 0.05$),证实多次妊娠可致受者 PRA 水平升高。原因可能是由于女性妊娠过程中,胚胎具有的父系 HLA 抗原刺激母体产生相应的抗体所致。受血者体内 HLA 抗体的产生与输入的抗原强度、输注次数和数量、间隔时间及受血者的免疫应答的敏感性有关;避免或减少输血,则可以最大可能地减少 HLA 致敏,降低移植排斥的可能^[11]。等待再次移植的患者 PRA 水平明显高于初次移植的患者,主要由于前次移植时,移植肾同种异体的 HLA 抗原暴露于受体的免疫系统,使受者产生了针对供者 HLA 抗原的特异性抗体所致。本研究中,0~3 MM 和 4~6 MM 两组 PRA 阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$),提示良好的配型结果能降低移植术后致敏发生率;文献报道接受亲属供肾的患者术后产生抗 HLA 抗体的概率较低,分析其主要原因即是亲属供肾常有非常好的配型^[12]。

对于多种因素对个体 PRA 水平的影响,由于相应病例较少而未作分析。在大多文献中都显示既有输血史、妊娠史又有移植史的患者致敏程度更高。因此,避免供受者间的 HLA 位点的错配,避免或减少输血,可以最大可能地减少 HLA 致敏,降低移植术后排斥的风险。

参考文献

- [1] van Kampen CA, Roelen DL, Versteeg-van der Voort Maarschack MF, et al. Activated HLA class I reactive cytotoxic T lymphocytes associated with a positive historical crossmatch predict early graft failure[J]. *Transplantation*, 2002, 74(8): 1114-1119.
- [2] Dilioglou S, Cruse JM, Lewis RS, et al. High panel reactive antibody against cross reactive group antigens as a contraindication to renal allo Transplantation[J]. *Exp Mol Pathol*, 2001, 71(1): 73-78.
- [3] 田野, 贾宝祥, 武俊杰, 等. 群体反应性抗体在肾脏移植中的临床意义[J]. *北京医学*, 2007, 29(1): 16-18.
- [4] Morales-Buenrostro LE, Rodriguez-Romo R, de Leo-Cervantes C, et al. Evidence on the role of HLA and MICA antibodies in renal graft loss[J]. *Gac Med Mex*, 2008, 144(4): 315-322.
- [5] Huang XE, Xia SS, Li LY, et al. Risk factors for (下转第 1457 页)

结果见表 2。

表 2 56 例 HBsAg 和抗-HBs 双阳性者血清 HBV DNA 检测结果

血清学模式	n	HBV DNA 水平 (IU/mL)	n	构成比(%)	百分比(%)
A	24	<10 ³	2	8.30	41.6
		10 ³ ~10 ⁴	5	20.80	
		10 ⁴ ~10 ⁵	2	8.30	
		10 ⁵ ~10 ⁶	1	4.20	
B	17	<10 ³	1	5.90	70.5
		10 ³ ~10 ⁴	3	17.60	
		10 ⁴ ~10 ⁵	4	23.50	
		10 ⁵ ~10 ⁶	4	23.50	
C	14	<10 ³	1	7.14	21.4
		10 ³ ~10 ⁴	1	7.14	
		10 ⁴ ~10 ⁵	1	7.14	
		10 ⁵ ~10 ⁶	0	0.00	
D	1	<10 ³	0	0.00	100.0
		10 ³ ~10 ⁴	0	0.00	
		10 ⁴ ~10 ⁵	1	1.80	
		10 ⁵ ~10 ⁶	0	0.00	

3 讨 论

一般情况下 HBV 感染者若能完全清除病毒,那么 HBsAg 消失,抗-HBs 逐渐产生;或在 HBsAg 接近消失前,抗-HBs 逐渐升高。抗-HBs 阳性意味着 HBV 可能已被清除,人体已产生了保护作用^[1-2]。HBsAg 与抗-HBs 同时阳性在免疫学理论上虽然成立,但实际应用中较为少见。随着酶免疫试剂质量的不断提高,因试剂盒质量因素造成的检验误差逐渐减少^[3-4]。本研究用酶联免疫分析法筛选出 HBsAg 和抗-HBs 同时阳性的标本,经微粒子免疫分析确认,两者的符合率达 95% 以上,说明 HBsAg 与抗-HBs 双阳性在临床中是存在的。

对于出现 HBsAg 与抗-HBs 双阳性的现象可从如下几方面考虑。其一,感染早期,HBsAg 首先出现,然后出现抗-HBs;随着感染的持续,抗体产生越来越多,当抗体可有效中和抗原,阻止 HBV 进入细胞时,抗体可以清除抗原并超过抗原的含量,游离的抗体可以被检出,所以少数慢性乙型肝炎患者可出现 HBsAg 和抗-HBs 同时阳性^[5-6]。其二,HBV 的 S 区或前 S 区基因变异。HBV 4 个主要的血清亚型有一个共同的抗原表位“a”,另外还有 2 对互相排斥的亚型表位 d、y 和 w、r。“a”表位是与抗-HBs 结合的关键位点,此处个别氨基酸的变异就足以改变其抗原性和免疫应答^[7]。如“a”抗原表位第 145 位甘氨酸被精氨酸取代,变异株所产生的 HBsAg 可以逃避野生株所诱生的抗-HBs 的中和作用,使 HBsAg 与抗-HBs 共存^[8-9]。其三,不同亚型 HBV 的感染,针对于免疫优势表位

“a”表位的抗体可对所有亚型 HBV 的感染提供保护性免疫,但其他亚型抗体并无交叉保护性^[10]。其四,接种乙型肝炎疫苗或注射乙型肝炎免疫球蛋白者体内,虽有正常的抗-HBs 应答但缺乏对突变株的中和性,仍能感染抗原表位变异的免疫逃逸病毒株,从而出现 HBsAg 和抗-HBs 并存^[11-12]。

本研究结果表明,HBsAg 与抗-HBs 双阳性者中,血清学模式为 A 及 B 者 HBV DNA 阳性率高达 41.6% 和 70.5%。尤其伴随有 HBeAg 阳性时,HBV DNA 保持较高的水平。说明 HBsAg 与抗-HBs 双阳性者体内虽然有高滴度的抗-HBs,但未能阻止病毒的复制。虽然本研究病例数较少,有待积累更多的数据,但近半数 HBsAg 和抗-HBs 双阳性者仍存在病毒血症,应引起实验室和临床的高度重视。

参考文献

- [1] 骆抗先. 乙型肝炎基础和临床[M]. 北京:人民卫生出版社,2006: 233-235.
- [2] Chang MH. Hepatitis B virus infection[J]. Semin Fetal Neonatal Med, 2007, 12(3): 160-167.
- [3] 田拥军,覃莉,刘慎沛,等. 8 种国产 HBsAg 试剂盒检测变异 HBsAg 的效果评价[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(4): 250-252.
- [4] Zhang ZH, Peng J, Xia JB, et al. S gene mutations in HBsAg/anti-HBs double positive chronic hepatitis B patients[J]. Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi, 2009, 17(4): 266-270.
- [5] 王蕾,刘华,章励,等. 乙型肝炎血清标志物 HBsAg 和抗-HBs 同时阳性模式的相关研究[J]. 检验医学, 2008, 23(5): 530-534.
- [6] 李方和,张小燕,严兵,等. 抗 HBs mAb 的研制及其对野生与免疫逃逸变异 HBsAg 的交叉反应特征[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2008, 24(6): 594-596.
- [7] Wang L, Liu H, Ning X, et al. Sequence analysis of the S gene region in HBV DNA from patients positive for both HBsAg and anti-HBs tests[J]. Hepatol Res, 2010, 40(12): 1212-1218.
- [8] Zhang Z, Li L, Tian Y, et al. HBsAg/anti-HBs double positive hepatitis B virus infection model in vitro and in vivo[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci, 2009, 9(5): 575-579.
- [9] 刘静华,黄永国,张春燕,等. 乙肝泛变异 HBsAg 检测方法的建立及其在临床的初步应用[J]. 中国实验诊断学, 2008, 12(10): 1199-1203.
- [10] 武建国. 有关 HBV 血清标志物模式的几个问题[J]. 临床检验杂志, 2007, 25(4): 241-243.
- [11] 马兰花,任君,刘利,等. 探讨实时荧光 PCR 法检测乙肝病毒 DNA 在临床中的应用[J]. 西南国防医药, 2009, 19(8): 815-817.
- [12] 黄肖利,马晓宁,陈雯,等. 乙肝病毒核酸荧光定量与乙肝免疫标志物定量检测及肝功能的相关性研究[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(18): 3179-3181.

(收稿日期:2011-01-11)

(上接第 1455 页)

graft survival in sensitized recipients of kidney transplantation [J]. Di Yi Jun Da Xue Xue Bao, 2004, 24(2): 121-125.

- [6] 施倩倩,徐海燕. 尿微量蛋白检测对移植后肾功能的诊断价值[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(1): 78-80.
- [7] 赵明,李留洋,郭颖,等. 肾移植受者抗 HLA 抗体监测的临床意义[J]. 器官移植, 2010, 1(1): 38-40.
- [8] 谭建明,周永昌,唐孝达. 组织配型技术与临床应用[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002: 374-380.
- [9] 傅茜,王长希,曾文涛,等. 肾移植受者术前 HLA 特异性抗体筛查

(附 3 500 例报告)[J]. 中国免疫学杂志, 2009, 25(2): 143-145.

- [10] 帅莉,郭翠华,袁小鹏,等. 高致敏受者行肾移植术的临床研究[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(7): 396-398.
- [11] 贾保祥,武俊杰,田野. 肾移植患者术前输血与群体反应性抗体产生的关系[J]. 临床输血与检验, 2008, 10(1): 26-28.
- [12] 贾保祥,孙立宁,田野. 亲属肾移植患者术后群体反应性抗体与肾功能的比较研究[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 675-676.

(收稿日期:2011-01-14)