

· 临床检验研究 ·

尿 HLA-DR 在肾移植急性排斥中的检测及其临床意义

李沙丹¹, 王亮¹, 王庆堂¹, 李黔生², 靳风烁², 张克勤²

(1. 中国人民解放军成都军区总医院泌尿外科, 成都 610083; 2. 第三军医大学大坪医院泌尿外科, 重庆 400042)

摘要:目的 探讨流式细胞术检测尿淋巴细胞人类白细胞抗原(HLA-DR)对移植肾急性排斥反应的诊断价值。方法 36 例肾移植患者按照移植肾功能正常、术后急性排斥反应、其他原因引起移植肾功能不全等标准分为 A~C 组,另选取 10 例健康志愿者作为对照(D 组),采用流式细胞术检测尿中 HLA-DR 阳性细胞表达率。结果 与 A、C、D 组相比,尿淋巴细胞 HLA-DR 在排斥反应时表达明显增加($P < 0.01$),抗排斥治疗后逐渐下降。与 D 组相比,A 组和 C 组 HLA-DR 表达率轻度升高($P < 0.05$),但两组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 流式细胞术动态检测尿液中 HLA-DR 阳性率,能准确反映肾移植术后患者的免疫状态,可作为急性排斥反应的特异标志。

关键词:HLA 抗原; 肾移植; 急性排斥反应

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1690-02

Clinical utility of monitoring HLA-DR antigen for the diagnosis of acute rejection after renal transplantation

Li Shadan¹, Wang Liang¹, Wang Qingtang¹, Li Qiansheng², Jin Fengshuo², Zhang Keqin²

(1. Department of Urology, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China; 2. Department of Urology, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To investigate the diagnostic value of the detection of HLA-DR antigen by flow cytometry (FCM) for the diagnosis of acute rejection after renal transplantation. **Methods** 36 recipients of renal transplantation were enrolled and divided into 3 groups, including group A with normal renal function, group B with acute rejection and group C with elevated serum creatinine but without rejection. 10 cases of healthy individuals were enrolled as controls (group D). Urinary samples, collected from all subjects, were detected for the percentage of HLA-DR positive cells by FCM. **Results** Compared with group A, C and D, The expression of HLA-DR increased significantly in group B ($P < 0.01$) and gradually decreased after anti-rejection therapy. Compared with group D, the expression of HLA-DR increased in group A and C ($P < 0.05$), but there was no statistical difference between group A and C ($P > 0.05$). **Conclusion** The dynamic investigation of HLA-DR expression by FCM would be helpful for the diagnosis of rejection and the estimation of anti-rejection effect.

Key words: HLA antigens; kidney transplantation; acute rejection

肾移植术后急性排斥反应是最常见的一种排斥类型,及时、准确诊断急性排斥反应是维持移植肾良好功能的关键^[1]。病理活检是明确诊断排斥反应的金标准,但是由于有创操作引起不同程度的损伤,难免会影响移植肾的功能,并且不易与药物性肾损害等进行鉴别,诊断时间较长,需要 2~3 d 的时间。因此,建立敏感、特异的非侵袭性检查方法和客观指标,对于诊断和预测排斥反应及其转归,制定个体化免疫抑制方案均具有重要意义^[2]。尿流式细胞术(FCM)是利用尿液中的细胞进行流式细胞仪检测的无创性检测方法。有研究者报道,肾移植术后尿 FCM 检查可以作为移植肾急性排斥反应辅助诊断方法^[3]。本研究探讨了以 FCM 进行尿人类白细胞抗原(HLA-DR)阳性细胞检测,分析其在肾移植早期急性排斥反应监测中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 患者的纳入:年龄在 16 岁以上成人,已行肾移植手术,并将其分为 A~C 组;其中尿量及血肌酐浓度于移植后 3~7 d 恢复正常且保持稳定的移植肾功能稳定患者 18 例(A 组),男 16 例,女 2 例,年龄(41.31±9.77)岁;分别于术后 3~6 个月内出现尿量减少,已下降或已正常的血肌酐浓度又升高,移植肾穿刺病理检查提示急性排斥反应的患者 8 例(B 组),男 6 例,女 2 例,年龄(39.75±11.25);因环孢素 A (CsA)中毒、急性肾小管坏死、外科因素(动脉狭窄、输尿管狭

窄等)、感染等其他原因引起移植肾功能不全的患者 9 例(C 组),男 8 例,女 1 例,年龄(42.58±8.75)岁。另选同期健康志愿者 10 例作为对照(D 组),男 7 例,女 3 例,年龄(40.23±11.95)岁。入选患者均接受 CsA、霉酚酸酯(MMF)、泼尼松(Pred)三联免疫抑制治疗。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 A 组:分别于术前 1 天和术后第 3、7、14、28 天各采集尿液 1 次,每次留取新鲜尿液 50 mL。B、C 组:分别于移植肾功能发生异常后第 1、3、7、14、28 天各采集尿液 1 次。D 组:分别于第 1、3、7、14、28 天各采集尿液 1 次。

1.2.2 检测方法 采用流式细胞术(FCM)检测尿液中人类白细胞抗原(HLA-DR)阳性细胞率;并检查各组血肌酐浓度、24 h 尿量。

1.3 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组内分析采用独立样本 t 检验,组间比较采用重复测量数据方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组术后肾功能变化 A 组术后血肌酐逐渐降至正常水平,尿量增加至 2 000~3 000 mL/d;B 组术后血肌酐明显升高伴少尿或无尿,经抗排斥治疗后血肌酐逐渐下降,尿量增加至正常;C 组术后血肌酐逐渐降至正常水平,尿量增加至 2 000~3 000 mL/d,见表 1。

表 1 各组术后血肌酐变化(μmol/L)

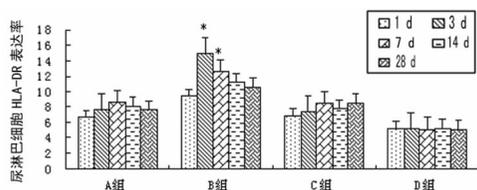
时间	A 组	B 组	C 组	D 组
第 1 天	920.5±90.2	934.7±110.2	936.4±102.5	71.1±15.2
第 3 天	361.8±142.5	881.3±113.9	849.9±91.2	65.2±7.4
第 7 天	150.1±17.8	840.5±95.7	707.1±93.2	62.1±8.9
第 14 天	113.8±12.8	452.4±129.1	292.5±58.3	72.5±17.3
第 28 天	107.2±14.3	143.5±47.3	129.5±34.5	74.2±14.3

2.2 各组尿淋巴细胞 HLA-DR 表达率比较 B 组尿淋巴细胞 HLA-DR 表达率与 A、C、D 组相比均有统计学意义差异(P 均小于 0.01); A、C 组与 D 组比较, 差异有统计学意义(P < 0.05), A、C 两组间差异无统计学意义(P > 0.05), 见表 2。

表 2 各组尿淋巴细胞 HLA-DR 表达率比较(%)

时间	A 组	B 组	C 组	D 组
第 1 天	6.64±3.69	9.41±7.82	6.86±4.15	5.23±0.73
第 3 天	7.67±2.73	14.89±11.15	7.31±3.61	5.15±0.65
第 7 天	8.61±2.61	12.55±8.21	8.42±4.90	5.07±0.69
第 14 天	8.00±4.16	11.19±5.88	7.74±3.81	5.23±0.57
第 28 天	7.64±3.07	10.58±5.72	8.50±3.77	5.04±0.59

2.3 尿淋巴细胞 HLA-DR 表达率的组内分析 A 组不同时间点淋巴细胞 HLA-DR 表达率与同组第 1 天比较, 无统计学意义差异(P > 0.05); B 组各个时间点淋巴细胞 HLA-DR 表达率与同组第 1 天相比, 在第 3、7 天有显著升高(P < 0.01); C 组各个时间点淋巴细胞 HLA-DR 表达率与同组第 1 天相比, 均有不同程度的升高, 但差异无统计学意义(P > 0.05); D 组各个时间点淋巴细胞 HLA-DR 表达率与同组第 1 天比较, 差异无统计学意义(P > 0.05), 见图 1。



*: P < 0.01, 与同组第 1 天相比。

图 1 尿淋巴细胞 HLA-DR 表达率组内分析

3 讨论

急性排斥反应发生时, 移植肾间质有大量活性淋巴细胞浸润, 这些免疫活性细胞伴随肾组织细胞冲落入尿液中, 使尿细胞学检查常有特异性发现。许多临床研究证实, 尿细胞学分析是一种诊断和鉴别诊断移植肾急性排斥反应的有效方法^[1,3-4]。但由于尿中细胞形态差异较大, 因此主观因素对结果的影响较大。此外, 尿中细胞量少, 对样本处理技术要求较高, 从而使结果判定难度加大。而 FCM 由于具有分辨率、准确率及特异性极高的特点, 使其免疫监测能力远强于尿细胞免疫组织化学分析。

HLA II 类抗原是膜结合糖蛋白家族成员, 在抗原识别及其后的免疫反应中起重要作用, 在小鼠及人类移植肾急性排斥中已经证实 HLA II 类抗原表达增强^[5]。已经证明健康人肾脏有 HLA II 类抗原的表达, 并且在急性排斥的移植肾小管上皮和移植心脏血管内皮 HLA II 类抗原表达上调, 表明 HLA

II 类抗原的诱导与器官移植有关, 因为表达 HLA II 类抗原的细胞反过来又刺激移植反应并成为排斥反应的靶器官^[6]。

一般来讲, 除 B 淋巴细胞和血管内皮细胞外, 其他细胞表面无 HLA II 类抗原的表达, 只有在特殊免疫反应发生时, 才在其他细胞表面出现^[7]。另外, 利用 HLA II 类抗原的特异性抗体对急性排斥反应时移植肾活检标本进行免疫组织染色, 发现在肾小球和肾小管上皮有 HLA II 类抗原的存在, 同时, 正常肾组织除血管内皮以外无特异性染色^[8]。以上研究结果提示, 脱落于尿中的移植肾细胞及其碎片表面抗原的变化与排斥反应有直接的相关性。

本研究检测的 HLA-DR 属于 HLA II 类抗原, 实验发现, A 组与 C 组之间的 HLA-DR 表达率差异无统计学意义(P > 0.05), 而与 D 组相比则有明显升高(P < 0.05), 但低于 B 组, 提示同种异体肾移植后在同种抗原刺激及免疫抑制剂的双重作用下, 淋巴细胞被轻度活化, 但尚不能对移植肾构成明显损害; B 组的 HLA-DR 表达率明显高于 A、C、D 组(P < 0.05), 提示急性排斥反应过程中激活的淋巴细胞表面的 HLA-DR 处于高表达状态, 急性排斥反应时抗原刺激作用强于免疫抑制作用, 淋巴细胞激活程度增加, HLA-DR 表达增强。本研究结果显示, FCM 动态检测尿液中 HLA-DR 表达率, 能准确反映肾移植术后患者的免疫状态, 可作为急性排斥反应的特异性标志。

参考文献

- Gjertson DW, Cecka JM. Determinants of long term survival of pediatric kidney grafts reported to the United Network for Organ Sharing kidney transplant registry[J]. *Pediatr Transplant*, 2001, 5(1): 5-15.
- 秦超. 可溶性 CD30 在肾移植排斥反应监测中的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2006, 27(5): 437-439.
- Roberti I, Reisman L. Serial evaluation of cell surface markers for immune activation after acute renal allograft rejection by urine flow cytometry correlation with clinical outcome[J]. *Transplantation*, 2001, 71(9): 1317-1320.
- Segasothy M, Birch DF, Fairley KF, et al. Urine cytologic profile in renal allograft recipients determined by monoclonal antibodies[J]. *Transplantation*, 1989, 47(3): 482-487.
- Häyry P, von Willebrand E. The influence of the pattern of inflammation and administration of steroids on class II MHC antigen expression in renal transplants[J]. *Transplantation*, 1986, 42(4): 358-363.
- 邢俊平, 周华, 武小桐, 等. 慢性排斥移植肾中细胞间黏附分子-1 与 HLA-DR 表达的关系[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2001, 22(9): 538-540.
- Lynas C, Hurlock NJ, Copplestone JA, et al. HLA-DR typing for kidney transplants: Advantage of polymerase chain reaction with sequence specific primers in routine hospital laboratory[J]. *J Clin Pathol*, 1994, 47(7): 609-612.
- Mueller A, Schnuelle P, Waldherr R, et al. Impact of the Banff 97 classification for histological diagnosis of rejection on clinical outcome and renal function parameters after kidney transplantation[J]. *Transplantation*, 2000, 69(6): 1123-1127.