

# 抗供者特异性抗体对致敏肾移植受者的临床意义\*

郭娟<sup>1</sup>, 朱明慧<sup>2</sup>, 蒋欣<sup>1</sup>, 苗书斋<sup>1</sup>, 曲青山<sup>1</sup>, 杨磊<sup>1</sup>

## Clinical significance of donor-specific anti-HLA antibodies for sensitized renal transplantation recipients

Guo Juan<sup>1</sup>, Zhu Ming-hui<sup>2</sup>, Jiang Xin<sup>1</sup>, Miao Shu-zhai<sup>1</sup>, Qu Qing-shan<sup>1</sup>, Yang Lei<sup>1</sup>

### Abstract

**BACKGROUND:** Sensitive techniques are able to detect low levels of circulating antibodies. However, clinical consequences of these antibodies still unknown.

**OBJECTIVE:** To investigate the clinical significance of donor-specific anti-HLA antibodies (DSA) for sensitized renal transplantation recipients and its role in predicting early rejection after kidney transplantation.

**METHODS:** Patients who received kidney transplantation were tested for pre-transplant complement-dependent cytotoxicity (CDC) crossmatches and panel reactive antibodies (PRA). Patients were considered to have circulating antibodies if PRA was equal to or greater than 10%. These patients were then analyzed for DSA. Clinical outcomes were compared in patients with and without DSAs.

**RESULTS AND CONCLUSION:** In a total of 379 patients who underwent transplantation, 55 had PRA equal to or greater than 10%. Of these 55 patients, 75% had a history of a sensitizing event. Twenty out of 55 patients were DSA<sup>+</sup>. Patients with DSA detected by ELISA had higher rates of delayed graft function, acute rejection, and lower rates of graft survival. The detection of DSA was associated with significantly higher rates of graft dysfunction and immunological events. Conversely, the presence of antibodies but no DSA was associated with excellent outcomes. In patients with negative CDC crossmatches, the occurrence of low-level DSA could assist in identifying patients that require more aggressive immune monitoring or immunosuppressive strategies.

Guo J, Zhu MH, Jiang X, Miao SZ, Qu QS, Yang L. Clinical significance of donor-specific anti-HLA antibodies for sensitized renal transplantation recipients. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(53): 9929-9932. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

<sup>1</sup>Department of Organ Transplantation, <sup>2</sup>Department of Clinical Laboratory, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, Henan Province, China

Guo Juan★, Master, Laboratorian, Department of Organ Transplantation, People's Hospital of Zhengzhou, Zhengzhou 450003, Henan Province, China  
cynthiagj@163.com

Received:2010-06-15  
Accepted:2010-08-01

### 摘要

**背景:** 应用灵敏的技术可以检测到致敏肾移植患者体内低水平抗体,但是即便如此临床上依然无法完全检测出全部抗体。

**目的:** 探讨抗供者特异性抗体对致敏肾移植受者的临床意义及其在预测排斥反应中的作用。

**方法:** 肾移植术前常规检测补体依赖淋巴细胞毒试验和群体反应性抗体,群体反应性抗体阳性者(PRA≥10%)检测抗供者特异性抗体,其术后临床结果与抗供者特异性抗体阴性患者做比较。

**结果与结论:** 在 379 例接受肾移植的患者中,55 例患者的群体反应性抗体≥10%,这些患者中 75%曾有过过敏史。其中 20 例检测出抗供者特异性抗体,这些阳性患者肾移植术后更易发生急性排斥反应,移植肾功能恢复延迟和移植肾存活率低等。结果提示抗供者特异性抗体的存在与移植失功、排斥反应有显著相关性。而体内仅存非抗供者特异性抗体的患者移植效果相对好。对于淋巴细胞毒试验阴性但体内抗供者特异性抗体阳性的肾移植患者,术后需要更积极地监测免疫功能和调整免疫抑制方案。

**关键词:** 抗供者特异性抗体;肾移植;群体反应性抗体;排斥反应;免疫抑制

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.53.012

郭娟,朱明慧,蒋欣,苗书斋,曲青山,杨磊.抗供者特异性抗体对致敏肾移植受者的临床意义[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(53):9929-9932. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

## 0 引言

肾移植是终末期肾病的有效替代治疗方法,但部分肾移植患者易发生急、慢性排斥反应,移植肾功能延迟恢复,移植肾失功,致移植肾存活率下降<sup>[1]</sup>。术前常规对肾移植受者进行群体反应性抗体(panel reactive antibody, PRA)检测以及补体依赖淋巴细胞毒试验,可对移植前受者体内的 HLA 抗体水平有一定的了解,在一定程度上避免超急性排斥反应和减少急性排斥反应的发生,以及减轻排斥反应程度,提高移植物的存活率<sup>[2-4]</sup>。但是有一部分受者体内长期携带有抗 HLA 抗体<sup>[5-7]</sup>,即抗供者特异

抗体多是由患者在多次输血、妊娠或移植后受到同种 HLA 免疫致敏而产生的。这些抗体是造成超急性排斥反应和移植物丢失的主要原因<sup>[8-13]</sup>。因此,动态监测肾移植受者的 PRA 水平及其抗体特异性,可准确判断受者术前的免疫致敏状态,了解受者体内的 HLA 致敏状态与移植预后的关系,本科探讨抗供者特异性 HLA 抗体(Donor-Specific anti-HLA Antibodies, DSA)对致敏肾移植受者的临床意义以及其在预测排斥反应中的作用。

## 1 对象和方法

设计:回顾性病例分析。

郑州人民医院,  
<sup>1</sup>器官移植科,  
<sup>2</sup>检验科,河南省  
郑州市 450003

郭娟★,女,1981  
年生,河南省正阳县人,汉族,2007  
年河南师范大学  
毕业,硕士,检验  
师,主要从事分子  
生物学与组织配  
型研究。  
cynthiagj@163.  
com

中图分类号:R617  
文献标识码:A  
文章编号:1673-8225  
(2010)53-09929-04

收稿日期:2010-06-15  
修回日期:2010-08-01  
(20100415006/M·Z)

**时间及地点:** 2006-03/2008-12 在郑州人民医院器官移植科及检验科完成。

**对象:** 于 2006-03/2008-12 在郑州人民医院接受肾移植的 379 例患者中, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测出 55 例患者群体反应性抗体  $\geq 10\%$ , 在这些致敏受者中男 21 例, 女 34 例, 年龄 21~65 岁, 平均年龄 49 岁, 其中 20 例患者曾接受过肾移植, 24 例有输血史, 5 例女性受者有多次妊娠史, 8 例受者无明确致敏史。致敏肾移植受者中 20 例体内检测出抗供者特异性抗体。

所有肾移植供受者 ABO 血型相同或相容, 术前淋巴细胞毒试验死细胞数均  $< 10\%$ 。所有受者均按氨基酸残基配型标准选择供者<sup>[2]</sup>, 均小于 4 个残基错配。术后常规采用环孢素 A+吗替麦考酚酯+泼尼松, 或他克莫司+吗替麦考酚酯+泼尼松三联免疫抑制方案治疗。出现急性排斥反应者, 应用甲基泼尼松龙冲击治疗, 无效时静脉滴注抗淋巴细胞免疫球蛋白。

患者均为本院同种异体肾移植术受者, 对实验知情, 同意过程符合中华人民共和国国务院 1994 年颁发的《医疗机构管理条例》<sup>[14]</sup>。

**检测方法:**

**试剂:** 应用美国 One Lambda 公司生产的抗原板(LAT1240), 该抗原板包被 21 种 HLA-A 抗原, 42 种 HLA-B 抗原, 15 种 Cw 抗原, 18 种 HLA-DR 抗原和 7 种 HLA-DQ 抗原。可同时监测患者血清中的 HLA-I、II 类可溶性 IgG 类抗体。

**检测指标及方法:** 术前供受者均进行 HLA 分型及受者 PRA 检测, 移植肾失功后检测受者 PRA 水平, 致敏者行定量分析并确定阳性抗体的特异性。

**HLA 分型方法:** 顺序特异引物聚合酶链反应 (polymerase chain reaction with sequence specific primers, PCR-SSP) 技术。抽提供受者外周血 DNA, 基因扩增后, 常规琼脂糖凝胶电泳, 根据特异性产物的电泳条带进行 HLA-A, B, DR 基因分型。

**PRA 定性检测:** 莱姆德混合抗原板(lamda antigen tray mixed, LATM), 检测方法: 酶联免疫吸附法原理, LATM 板染色, 酶标仪读板及自动分析结果,  $\geq 10\%$  为阳性。

**PRA 定量检测及确定抗体特异性方法:** 莱姆德抗原板(lamda antigen tray, LAT1240)检测方法为阳性者进入此步骤。酶联免疫吸附法原理, 自动分析 PRA 阳性率并分析阳性抗体特异性。

**主要观察指标:** 术前致敏受者 HLA 分型及 PRA 检测, 术后 ELISA 法检测 DSA I 类或 II 类抗体。6 个月对患者回访, 观察总结患者及移植出现的排斥反应和存活情况。

**设计、实施、评估者:** 设计由第一、三、五作者完

成, 实施及评估由第二、四、六作者完成。均经过正规培训。

**统计学分析:** 由第三作者采用 SPSS 13.0 软件包进行资料处理。

组间比较采用卡方检验,  $P < 0.05$  为差异有显著性意义,  $P < 0.001$  表示差异有非常显著性意义,  $P \geq 0.05$  表示差异无显著性意义。

**2 结果**

**2.1 DSA 与移植临床结果的关系** 55 例肾移植术后患者中有 20 例(36%)体内存在 DSA, 这些抗体分布如下: 4 例携带有 I 类抗供者特异性抗体, 6 例携带 II 类抗供者特异性抗体, 10 例体内即有 I 类抗体又有 II 类抗体。见表 1。

Clinical outcome	DSA <sup>+</sup> (n=20)	DSA <sup>-</sup> (n=35)	$\chi^2$	P
Acute rejection	5/25	1/3	6.421	0.011
Delayed graft function	6/30	3/9	4.270	0.039
Graft dysfunction	2/10	2/6	0.347	0.056
Graft survival	15/75	34/97	6.421	0.011
Patient survival	18/90	33/94	0.347	0.056
Comprehensive factors	12/60	9/26	6.339	0.012

由表 1 可以看出与 DSA 阴性患者相比, DSA 阳性患者急性排斥反应发生率高, 差异有显著性意义 ( $P=0.011$ ); 移植肾功能延迟恢复发生率也较高 ( $P=0.039$ ); 半年的移植肾存活率也明显降低, 差异有显著性意义 ( $P=0.011$ )。

**2.2 DSA 与移植植物状况**

**患者存活率与移植植物失功:** 6 个月内在 DSA 阳性组中, 发生 5 例移植植物丢失, 主要原因是移植植物失功、移植肾破裂、顽固性排斥反应。而 DSA 阴性组有 2 例由肺炎和脑动脉栓塞引起的死亡。患者存活率与移植植物失功这两组差别没有显著性意义。

**临床的综合因素比较:** 两组临床的综合因素比较差异有显著性意义 (60% vs. 26%,  $P=0.012$ )。

DSA 阴性组中有 1 例发生急性排斥反应; DSA 阳性组中 2 例发生细胞性排斥反应, 3 例发生血管性排斥反应。

10 例体内同时存在 I、II 类 DSA 的患者(9 例女性, 1 例男性。4 例曾接受过移植)中 4 例发生了急性排斥反应, 2 例排斥反应剧烈致移植肾破裂而切除。

体内仅含有 DSA II 类抗体的患者中有 1 例发生剧烈的血管排斥反应导致移植植物丢失, DSA I 类抗体阳性的患者只发生了少数的临床症状, 没有发生急性排斥反应、移植植物失功、移植植物丢失或是死亡。

## 引起移植丢失和患者的死亡原因:

检测情况	移植丢失	死亡及原因
DSA <sup>+</sup>	移植丢失 2 例	突发死亡 1 例
	移植肾破裂, 失血性休克 2 例	重症肺炎 1 例
	顽固性排斥反应 1 例	
DSA <sup>-</sup>	移植丢失 1 例	重症肺炎 1 例
		脑动脉栓塞 1 例

## 3 讨论

致敏受者体内往往存在针对供者的特异性抗体, 包括 HLA- I、II 类抗体和一些非 HLA 类的抗体, 是移植术后发生排斥反应的高危人群<sup>[15-16]</sup>。如果受者术前体内预存大量 DSA, 术后易发生超急性排斥反应, 导致移植丢失。即使预存少量 DSA(尤其是 HLA-II 类抗体)也能导致术后短期内发生急性排斥反应, 影响移植肾的存活率<sup>[17]</sup>。相反, 体内仅存在非抗供者特异性抗体的患者移植效果相对好<sup>[18]</sup>。因此, 在肾移植时首先要选择与受者 HLA-II 类相合的供者, 其次选择 I 类抗原相匹配的供者, II 类抗原的匹配比 I 类抗原的匹配更重要<sup>[19-20]</sup>。

目前大多数移植中心是通过检测受者 PRA 以及补体依赖淋巴细胞毒试验来判断受者体内的致敏状况<sup>[21-25]</sup>。而本研究发现, DSA 比补体依赖淋巴细胞毒试验更能准确地反映受者体内的致敏状况, 这可能与补体依赖淋巴细胞毒试验只能检测补体依赖性抗体以及 HLA 抗原之间存在广泛的交叉反应有关<sup>[26-27]</sup>, 而 DSA 不仅能检测供者 HLA 的特异性抗体, 还能检测供者 HLA 交叉反应组抗原的抗体<sup>[28-31]</sup>。因此在肾移植手术前检测 DSA 具有较高的临床应用价值。

本试验发现尽管 DSA 的存在明显地影响急性排斥反应的发生率和器官的存活, 但是 DSA 阳性并不都产生严重后果, 也并不是所有的 DSA 阳性患者都不可以接受移植手术。本试验表明虽然急性排斥发生率和半年的器官存活率分别是 25% 和 75%, 但是很多患者的短期临床效果尚可。

虽然有很多方法可用来检测移植前患者体内预存抗体情况, 评估排斥反应发生的风险性, 但是实际工作中仍然不可避免地出现急、慢性排斥反应, 导致移植存活率下降。应用 ELISA 来检测患者体内的抗 HLA 抗体, 避开相应位点, 减少错配率, 减少了排斥反应的发生率。如果 PRA 结果是阴性, 则结合淋巴细胞毒试验, 减少假阳性结果。如果 PRA 结果是阳性的, 则根据组织配型和 DSA 检测来评估移植前的免疫风险系数。总之, DSA 的存在与排斥反应、移植丢失有显著相关性。对于补体依赖淋巴细胞毒试验阴性但 DSA 阳性的肾移植患者来说, 术后需要更积极地监测免疫功能和调整免疫抑制方案。

## 4 参考文献

- [1] Han F, Lv R, Jin J, et al. Pre-transplant serum concentrations of anti-endothelial cell antibody in panel reactive antibody negative renal recipients and its impact on acute rejection. *Clin Chem Lab Med*. 2009;47(10):1265-1269.
- [2] Gebel HM, Lebeck LK. Crossmatch procedures used in organ transplantation. *Clin Lab Med*. 1991;11(3):603-620.
- [3] Suzuki M, Ishida H, Komatsu T, et al. Kidney transplantation in a recipient with anti-HLA antibody IgM positive. *Transpl Immunol*. 2009;21(3):150-154.
- [4] Sohn YH, Cha CH, Kim MH, et al. Experience on identification of cross-reactive group specificity performed by anti-human globulin panel reactive antibody tests. *Korean J Lab Med*. 2008;28(5):362-370.
- [5] Lee PC, Terasaki PI, Takemoto SK, et al. All chronic rejection failures of kidney transplants were preceded by the development of HLA antibodies. *Transplantation*. 2002;74(8):1192-1194.
- [6] Muro M, Llorente S, Marin L, et al. Acute vascular rejection mediated by HLA antibodies in a cadaveric kidney recipient: discrepancies between FlowPRA, ELISA and CDC vs luminex screening. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(1):223-226.
- [7] De Meester J, Doxiadis II, Persijn GG, et al. Renal transplantation of highly sensitised patients via prioritised renal allocation programs. Shorter waiting time and above-average graft survival. *Nephron*. 2002;92(1):111-119.
- [8] Piazza A, Poggi E, Ozzella G, et al. Post-transplant donor-specific antibody production and graft outcome in kidney transplantation: results of sixteen-year monitoring by flow cytometry. *Clin Transpl*. 2006:323-336.
- [9] Muro M, Llorente S, González-Soriano MJ, et al. Pre-formed donor-specific alloantibodies (DSA) detected only by luminex technology using HLA-coated microspheres and causing acute humoral rejection and kidney graft dysfunction. *Clin Transpl*. 2006:379-383.
- [10] Ciccirelli J, Shah T, Koss M, et al. Renal graft loss in recipients with at least one year of function and donor specific antibody (DSA). *Clin Transpl*. 2006:539-540.
- [11] Hwang HS, Hyoung BJ, Lee SY, et al. Comparison of antibody monitoring system with flow cytometric crossmatch test in renal transplant recipients with high panel-reactive antibody. *Nephron Clin Pract*. 2009;111(4):c260-264.
- [12] Cruzado JM, Bestard O, Grinyó JM. Control of anti-donor antibody production post-transplantation: conventional and novel immunosuppressive therapies. *Contrib Nephrol*. 2009;162:117-128.
- [13] Briggs D, Zehnder D, Higgins RM. Development of non-donor-specific HLA antibodies after kidney transplantation: frequency and clinical implications. *Contrib Nephrol*. 2009;162:107-116.
- [14] State Council of the People's Republic of China. Administrative Regulations on Medical Institution. 中华人民共和国国务院. 医疗机构管理条例. 1994-09-01.
- [15] Huang XE, Li LY, Fan LP, et al. *Zhonghua Qiguan Yizhi Zazhi*. 2004;25(5):196-198. 黄先恩, 李留洋, 范礼佩, 等. 影响致敏患者移植肾存活的危险因素分析[J]. *中华器官移植杂志*, 2004, 25(5):196-198.
- [16] Gibney EM, Cagle LR, Freed B, et al. Detection of donor-specific antibodies using HLA-coated microspheres: another tool for kidney transplant risk stratification. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(9):2625-2629.
- [17] Sun QQ. *Shenzhangbing yu Touxi Shenyizhi Zazhi*. 2006;15(6):538-539. 孙启全. 肾移植致敏受者处理措施的选择[J]. *肾脏病与透析肾移植杂志*, 2006, 15(6):538-539.
- [18] Karpinski M, Rush D, Jeffery J, et al. Flow cytometric crossmatching in primary renal transplant recipients with a negative anti-human globulin enhanced cytotoxicity crossmatch. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(12):2807-2814.
- [19] Guo J, Miao SZ, Qu QS, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu*. 2009;13(8):3417-3420. 郭娟, 苗书斋, 曲青山, 等. 抗供者特异性抗体与肾移植后的急性排斥反应[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(8):3417-3420.
- [20] Kosmoliaptis V, Chaudhry AN, Sharples LD, et al. Predicting HLA class I alloantigen immunogenicity from the number and physiochemical properties of amino acid polymorphisms. *Transplantation*. 2009;88(6):791-798.
- [21] Miura M, Kubota KC, Itoh T, et al. Positive pre-transplant flow-panel reactive antibody detected after accelerated acute rejection with negative pre-transplant flow crossmatch. *Clin Transplant*. 2006;20 Suppl 15:33-37.

- [22] Wang SL,Zhang GF,Huang CB,et al.Chongqing Yixue. 2006;35(8):1445-1449.  
王书龙,张良甫,黄赤兵,等. PRA配型技术在致敏受者肾移植术中的应用研究[J]. 重庆医学,2006,35(8):1445-1449.
- [23] Li LY,Hu LJ,Lin MZ,et al.Zhonghua Qiguan Yizhi Zazhi. 2001;22(3): 196-198.  
李留洋,胡丽娟,林民专,等. 肾移植受者HLA特异性抗体的监测及临床应用[J]. 中华器官移植杂志,2001,22(3):196-198.
- [24] Mahmoud KM, Ismail AM, Sheashaa HA,et al. Value of donor-specific antibody detection in first-graft renal transplant recipients with a negative complement-dependent cytotoxic crossmatch. Exp Clin Transplant. 2009;7(2):124-128.
- [25] Hidalgo LG, Campbell PM, Sis B,et al. De novo donor-specific antibody at the time of kidney transplant biopsy associates with microvascular pathology and late graft failure.Am J Transplant. 2009;9(11):2532-2541.
- [26] Loupy A, Suberbielle-Boissel C, Hill GS,et al. Outcome of subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies. Am J Transplant. 2009;9(11):2561-2570.
- [27] Graft CA, Cornell LD, Gloor JM,et al. Antibody-mediated rejection following transplantation from an HLA-identical sibling. Nephrol Dial Transplant. 2010;25(1):307-310.
- [28] Jordan SC, Peng A, Vo AA. Therapeutic strategies in management of the highly HLA-sensitized and ABO-incompatible transplant recipients. Contrib Nephrol. 2009;162:13-26.
- [29] Lefaucheur C, Suberbielle-Boissel C, Hill GS,et al. Clinical relevance of preformed HLA donor-specific antibodies in kidney transplantation. Contrib Nephrol. 2009;162:1-12.
- [30] Turgeon NA, Kirk AD, Iwakoshi NN. Differential effects of donor-specific alloantibody. Transplant Rev (Orlando). 2009;23(1): 25-33.
- [31] Amico P, Hönger G, Biemann D,et al. Incidence and prediction of early antibody-mediated rejection due to non-human leukocyte antigen-antibodies. Transplantation. 2008;85(11):1557-1563.

#### 来自本文课题的更多信息--

**利益冲突:** 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

**课题的意义:** 抗供者特异性抗体阳性患者肾移植术后更易发生急性排斥反应, 移植肾功能恢复延迟和移植肾存活率低下等, 若肾移植术前常规检测患者体内预存抗体情况, 可以评估排斥反应发生的风险性, 避免给患者带来不必要的损失。

**课题评估的“金标准”:** 应用 ELISA 法检测患者体内抗供者特异性抗体, 其灵敏和精确度高, 比常规补体依赖淋巴细胞毒试验更具有临床意义和价值。

**设计或课题的偏倚与不足:** 受实验室条件限制, 本试验所采用酶联免疫吸附法检测抗供者特异性抗体其准确性好但灵敏度不够, 如采用流式细胞仪检测将更有说服力。另外本试验搜集的只有半年的临床结果, 若延长研究时间则结果将更有价值。

**提供临床借鉴的价值:** 肾移植术前常规检测患者体内预存抗体情况, 可以回避排斥反应可能发生的风险性, 避免出现不可逆转的急性排斥反应或移植物失功, 对临床医师有指导意义。