

· 研究原著 ·

文章编号: 1000-2790(2002)20-1908-04

## 氨基酸三联体方法评价 11例心脏移植供受体匹配情况的结果分析

王晓武<sup>1</sup>, 蔡振杰<sup>1</sup>, 胡 军<sup>1</sup>, 胡巧侠<sup>1</sup>, 管德林<sup>2</sup>(<sup>1</sup>第四军医大学西京医院心血管外科中心, 陕西 西安 710033, <sup>2</sup>北京市朝阳区医院泌尿外科, 北京 100003)

关键词: HLA抗原; 交叉反应组; 氨基酸三联体

中图分类号: R654.2 文献标识码: A

**摘要:** 目的 介绍氨基酸三联体方法在评价心脏移植供受体 HLA-I类抗原配合程度中的应用, 分析其与交叉反应组评价方法之间的结果差异。方法 分别用上述两种方法对 11例心脏移植供受体的 HLA抗原配合情况进行评价, 并对两种评价结果进行分析。结果 ① 应用 HLA抗原交叉反应组方法分析 11例心脏移植供受体, 其 HLA抗原配合的优劣顺序为: 例 1= 例 3= 例 5= 例 6> 例 7= 例 9= 例 11> 例 2= 例 8> 例 4> 例 10, 例 1例 3例 5例 6供受体配合最好; ② 应用氨基酸三联体方法分析上述 11例心脏移植供受体, 其 HLA抗原配合的优劣顺序为: 例 3> 例 5> 例 2> 例 8> 例 11> 例 7> 例 4> 例 6> 例 9> 例 10> 例 1, 例 3供受体配合最好, 例 1最差。结论 氨基酸三联体方法从分子水平提供了多个分析参数供参考, 能更精确地比较供受体 HLA-I抗原间的差异, 可能更有利于供受体的筛选和评价。

## Analysis of donor's and receptor's matching by amino acid triplets in 11 cases of cardiac transplantation

WANG Xiao-Wu<sup>1</sup>, CAI Zhen-Jie<sup>1</sup>, HU Jun<sup>1</sup>, HU Qiao-Xia<sup>1</sup>, GUAN De-Lin<sup>2</sup><sup>1</sup>Centre of Cardiovascular Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China**Keyword** HLA antigens; cross-reactive groups; amino acid triplets

**Abstract** **AIM** To introduce the application of amino acid triplets in the evaluation of donor and to receptor's HLA-I compatibility of cardiac transplantation and to analyse the difference between amino acid triplets and HLA CREGs.

**METHODS** To the compatibility of donor and receptor's HLA antigen was evaluated respectively by amino acid triplets and CREGs in 11 cases of cardiac transplantation, and the results of the two methods were compared. **RESULTS** ① The analysis of donor and receptor of 11 cases By CREGs showed the sequence of HLA antigen compatibility is, case 1= case 3= case 5= case 6> case 7= case 9= case 11> case 2= case 8> case 4> case 10, Case 1, 3, 5 and 6 were the best. ② By amino acid triplets in 11 cases of cardiac transplantation, the sequence was, case 3> case 5> case 2> case 8> case 11> case 7> case 4> case 6> case 9> case 10> case 1, and case 3 was the highest. Case 1 was the lowest. **CONCLUSION** Amino acid triplets provides several analyzing parameters at the molecular level, which makes it possible for us to determine the difference of HLA-I between donor and receptor and to select and evaluate donor and receptor more accurately.

## 0 引言

在临床组织或器官移植中, 均需对供受体的人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 配合情况进行评价, 其评价结论的可靠与否直接影响对供受体的选择及移植后的器官存活时间, 目前对配型结果的评价一直依据于 HLA交叉反应组 (cross reactive group, CREG) 的配合情况。一般认为即使配型不一致只要属于 1个交叉反应组, 也认为是可接受的, 称之为可接受错配。但若都是 1个 CREG错配或 2个 CREG错配的供受体, 单从配型的角度考虑, 在器官移植后发生排斥的可能性是否是一样呢? 1个 CREG错配一定比 2个 CREG错配的供受体匹配程度好吗? 临床上的结果比较混乱, 且由于其预测与实际情况符合率不高, 甚至有人认为配型与器官移植存活没有关系<sup>[1]</sup>。2000年初, Duquesnoy<sup>[2]</sup>对 HLA-I类抗原提出了氨基酸三联体配型法。本文以我科近 3年 11例心脏移植的供受体 I 类抗原配型结果为例, 用 CREG及氨基酸三联体两种方法对配型结果进行

供受体 HLA-I类抗原配合程度中的应用;在对供受体匹配程度的评价结果中,我们发现二者的结论差别很大,现介绍如下.

1 材料和方法

1.1 HLA配型方法 使用美国 Pel-Freez公司的试剂盒进行检测,荧光终止液显色.

1.2 HLA抗原的交叉反应组 (CERG) 分组资料

来自美国 Pel-Freez公司《HLA实验技术参考资料》,共分: A01C, A10C, A02C, B05C, B07C, B08C, B12C, B21C, BW 4及 BW 6 10个交叉反应组.

1.3 HLA-I 类分子上抗体可及位点的氨基酸三联体多态性资料及配型软件 分别见李幼平教授主编的《移植免疫生物学》中的 HLA Matchmaker (P469)及匹兹堡网站. 其评价方法见 Tab 1.

表 1 供受体 HLA-I 类抗原在氨基酸三联体水平配合比较

Tab 1 Comparison of recipient and donor's HLA-I antigen matching in amino acid triplet levels

| Item                    | HLA-I | Amino acid site |    |    |    |    |      |    |    |      |     |     |     |      |     |    |     |     |     |
|-------------------------|-------|-----------------|----|----|----|----|------|----|----|------|-----|-----|-----|------|-----|----|-----|-----|-----|
|                         |       | 9               | 12 | 14 | 17 | 41 | 45   | 56 | 62 | 66   | 70  | 74  | 76  | 80   | 82  | 90 | 105 | 107 | 127 |
| Recipient 1             | A01   | (f)             | SV | R  | GR | A  | KME  | G  | qe | RNM  | ahs | (d) | AN  | gdl  | LRG | D  | P   | G   | N   |
|                         | A23   | (S)             | SV | R  | GR | A  | (me) | G  | EE | GKV* | ahs | (d) | EN* | RIA* | ALR | A  | s   | G   | K*  |
|                         | B65   | (y)             | av | R  | GR | A  | ee   | G  | RN | qic  | tnt | (d) | ES  | RNL  | LRG | A  | P   | G   | N   |
|                         | B35   | (y)             | am | R  | GR | A  | te   | G  | RN | qif  | tnt | y   | ES  | RNL  | LRG | A  | P   | G   | N   |
| Donor 1                 | A02   | (f)             | SV | R  | GR | A  | (me) | G  | GE | RKV* | ahs | H   | vd  | gdl  | LRG | A  | s   | W*  | K*  |
|                         | A24   | (S)             | SV | R  | GR | A  | (me) | G  | EE | GKV* | ahs | (d) | EN* | RIA* | ALR | A  | s   | G   | K*  |
|                         | B07   | (y)             | SV | R  | GR | A  | ee   | G  | RN | QIY  | AQA | (d) | ES  | RNL  | LRG | A  | P   | G   | N   |
|                         | B39   | (y)             | SV | R  | GR | A  | ee   | G  | RN | qic  | tnt | (d) | ES  | RNL  | LRG | A  | P   | G   | N   |
| Triplet immuno-genicity | A02   | -               | -  | -  | -  | -  | -    | -  | GE | RKV* | -   | H   | -   | -    | -   | A  | -   | W*  | K*  |
|                         | A24   | (S)             | -  | -  | -  | -  | -    | -  | EE | GKV* | -   | -   | EN* | RIA* | ALR | A  | -   | -   | K*  |
|                         | B07   | -               | -  | -  | -  | -  | -    | -  | -  | QIY  | AQA | -   | ES  | RNL  | -   | A  | -   | -   | -   |
|                         | B39   | -               | -  | -  | -  | -  | -    | -  | -  | -    | -   | -   | ES  | RNL  | -   | A  | -   | -   | -   |

| Item                    | HLA-I | Amino acid site |      |     |       |       |     |     |     |      |     |     |     |     |     |      |     |     |     |
|-------------------------|-------|-----------------|------|-----|-------|-------|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|-----|-----|------|-----|-----|-----|
|                         |       | 142             | 144  | 147 | 149   | 151   | 156 | 158 | 163 | 166  | 171 | 177 | 180 | 184 | 186 | 193  | 199 | 207 | 246 |
| Recipient 1             | A01   | I               | TKR  | W   | AVH   | VHA   | (R) | V   | R   | (DG) | Y   | ET  | Q   | P   | K   | (pi) | A   | G   | A   |
|                         | A23   | I               | TQR  | W   | AAR   | (arv) | (l) | A   | t   | (DG) | Y   | ET  | Q   | P   | K   | (pi) | A   | G   | A   |
|                         | B65   | I               | TQR  | W   | AAR   | are   | (l) | A   | t   | EW   | h   | ET  | Q   | P   | K   | (pi) | A   | G   | A   |
|                         | B35   | I               | TQR  | W   | AAR   | (arv) | (l) | A   | l   | EW   | Y   | ET  | Q   | P   | K   | (pv) | A   | G   | A   |
| Donor 1                 | A02   | T*              | TKH  | W   | (AAH) | AHV*  | (l) | A   | t   | EW   | Y   | ET  | Q   | (A) | K   | av   | A   | s   | A   |
|                         | A24   | I               | TKR  | W   | (AAH) | AHV*  | Q   | A   | t   | (DG) | Y   | ET  | Q   | P   | K   | (pi) | A   | G   | A   |
|                         | B07   | I               | TQR  | W   | AAR   | are   | (R) | A   | E   | EW   | Y   | DK  | E   | P   | K   | (pi) | A   | G   | A   |
|                         | B39   | I               | TQR  | W   | AAR   | (arv) | (l) | (t) | t   | EW   | Y   | ET  | Q   | P   | K   | (pi) | A   | G   | A   |
| Triplet immuno-genicity | A02   | T*              | TKH* | -   | (AAH) | AHV*  | -   | -   | -   | -    | -   | -   | (A) | -   | -   | -    | -   | -   | -   |
|                         | A24   | -               | TKR  | -   | (AAH) | AHV*  | Q   | -   | -   | (DG) | -   | -   | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   |
|                         | B07   | -               | -    | -   | -     | -     | (R) | -   | E*  | -    | -   | DK  | E   | -   | -   | -    | -   | -   | -   |
|                         | B39   | -               | -    | -   | -     | -     | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   | -   | -   | -    | -   | -   | -   |

Case 1 Evaluation of recipient and donor's HLA-I antigen matching in amino acid triplet level 22 amino acids triplet mismatching, 17 possess anti-

2 结果

见 Tab 2

2.1 11例心脏移植供受体 HLA-I类抗原配型结果

表 2 11例心脏移植供受体 HLA-I类抗原配型结果

Tab 2 HLA-I antigen typing results of 11 recipients and donors of heart transplantation

| Group | HLA site | 1   | 2   | 3   | 4   | 5   | 6   | 7   | 8   | 9   | 10  | 11  |
|-------|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Re    | A        | A1  | A2  | A1  | A24 | A11 | A1  | A30 | A24 | A30 | A11 | A1  |
|       | site     | A23 | A32 | A2  | A33 |     | A24 | A33 | A66 | A31 | A29 | A26 |
|       | B        | B35 | B7  | B37 | B38 | B7  | B52 | B35 | B39 | B35 | B35 | B13 |
|       | site     | B65 | B44 | B39 | B57 | B73 | B54 | B13 | B61 | B51 | B71 |     |
|       |          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Do    | A        | A2  | A2  | A2  | A11 | A3  | A2  | A2  | A2  | A2  | A24 | A11 |
|       | site     | A24 | A11 | A31 | A26 |     | A24 | A30 | A24 | A31 | A32 | A32 |
|       | B        | B7  | B13 | B46 | B52 | B62 | B13 | B13 | B46 | B27 | B18 | B7  |
|       | site     | B39 | B35 | B62 | B61 | B67 | B54 | B58 | B51 | B35 | B60 | B38 |
|       |          |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |

Re recipient; Do donor; HLA: human leukocyte antigen.

2.2 11例心脏移植供受体配合情况 (CREG方法评价结果) 例 1供者对受者 B位点 1个 CREG 错配;例 2供者对受者 A位点 1个及 B位点 2个 CREG 错配;例 3供者对受者 A位点 1个 CREG 错配;例 4供者对受者 A位点 1个及 B位点 3个 CREG 错配;例 5供者对受者有 1个 B位点 CREG 错配;例 6供者对受者 B位点 1个 CREG 错配;例 7供者对受者 A位点及 B位点各有 1个 CREG 错配;例 8供者对受者 B位点 3个 CREG 错配;例 9供者对受者 A位点及 B位点各有 1个 CREG 错配;例 10供者对受者 A位点 2个及 B位点 3个 CREG 错配;例 11供者对受者 B位点 2个 CREG 错配.

2.3 11例心脏移植供受体 HLA抗原配合情况 (氨基酸三联体方法评价结果) (Tab 1). 例 1供者对受者有 22个氨基酸三联体错配,17个具有抗原性,15个具有强抗原性;例 2供者对受者有 11个氨基酸三联体错配,4个具有抗原性,2个具有强抗原性;例 3供者对受者有 16个氨基酸三联体错配,3个具有抗原性,但无强抗原性三联体;例 4供者对受者有 25个氨基酸三联体错配,17个具有抗原性,10个具有强抗原性;例 5供者对受者有 16个氨基酸三联体错配,3个具有抗原性,2个具有强抗原性;例 6供者对受者有 16个氨基酸三联体错配,15个具有抗原性,12个具有强抗原性;例 7供者对受者有 16个氨基酸三联体错配,15个具有抗原性,12个具有强抗原性;例 8供者对受者有 21个氨基酸三联体错配,7个具有抗原性,5个具有强抗原性;例 9供者对受者有 18个氨基酸三联体错配,15个具有抗原性,13个具有强抗原性;例 10供者对受者有 25个氨基酸三联体错配,20个具有抗原性,13个具有强抗原性;例 11供者对受者有 21个氨基酸三联体错配,11个具有抗原性,6个具有强抗原性.

3 讨论

根据各种 HLA-I 类分子晶体结构的详细描述,可以确定其抗体可及部位.根据已发表的血清学鉴别的 HLA抗原的氨基酸序列,可确定三联体的所有组成部分.目前已确定了血清学抗原鉴别的 HLA-A HLA-B抗原自第 12位氨基酸至第 253位氨基酸中 40个位点的 149种抗体可及多态性三联体<sup>[2-5]</sup>.其各位点氨基酸的变化,是导致各种 HLA抗原性不同的主要原因,即各位点氨基酸三联体的多态性决定了 HLA-A HLA-B抗原的多态性. HLA Matchmaker是一种微机软件,它以 HLA-I 类分子的多态性结构为基础,其前提是认为每一个已确定的 HLA-I 类抗原或其亚型的氨基酸序列在以上 40个位点上的氨基酸三联体是固定不变的,例如 A23抗原,任何人的所有 A23抗原的上述 40个位点上的氨基酸三

HLA-I 类抗原配型结果后,即可输入计算机调出供受体每个抗原在上述 40个位点的所有三联体结构;比较各位点供受体三联体结构的差别,即可了解供受体 HLA 抗原在氨基酸三联体结构上的匹配程度。

从本文结果得知例 1 例 3 例 5 及例 6 各有一个 A 位点或 B 位点 CREG 错配,例 7 例 9 例 11 各有 2 个 CREG 错配,例 2 例 8 各共有 3 个 CREG 错配,例 4 有 4 个 CREG 错配,例 10 有 5 个 CREG 错配。就此结果我们的印象是例 1 例 3 例 5 及例 6 只有 1 个 CREG 错配,供受体配合较好;例 2 例 8 有 3 个 CREG 错配,供受体配合一般;例 10 有 5 个 CREG 错配,供受体配合最差。在移植后我们会认为它们发生排斥反应或产生抗供体抗体的可能性为:例 10>例 4>例 8=例 2>例 1=例 9=例 7>例 6=例 5=例 3=例 1。例 1 例 3 例 5 及例 6 之间谁的配合又更好一点呢?此配型方法无法做进一步的评价,但氨基酸三联体评价方法就可以作出更细致的比较。

从结果 2 3 可知:供受体 HLA-I 类抗原配合的优劣顺序为:例 3>例 5>例 2>例 8>例 11>例 7>例 4>例 6>例 9>例 10>例 1。由此我们得出的评价是例 1 供受体配合最差,移植后极易产生各种抗供体抗体。例 3 配合最好,移植后产生由 I 类抗原引起的排斥反应的可能性及产生抗供体抗体的可能性均较小。

为什么用两种方法评价得出的结果会有如此大的差别呢?分析这两种方法即可了解。氨基酸三联体配型方法,包含了血清学鉴别的 HLA-A HLA-B 抗原的 149 种抗体可及多态性三联体,这几乎囊括了 HLA-A HLA-B 抗原结构上所有可能具有抗原性的部位,且把这些抗体可及多态性三联体分为无抗原性,弱抗原性和强抗原性三种类型,它不但使我们在分子水平上了解供受体之间的差异,而且还能认识到这些差异可能引起免疫反应的强弱程度。而交叉反应组评价方法中,所有 HLA-I 类抗原仅分为 10 个交叉反应组,显然它们难以完全反映各 HLA 抗原之间的差异,难以准确评价供受体 HLA 抗原配合的好坏,致使临床结果常与评价结果不一致,这可能是不少临床医生认为 HLA 配型结果无较大临床参考价值的主要原因。虽然由于样本较小,本文不能得出一个肯定的结论,但从以上分析可知,氨基酸三联体方法的使用可能有助于提高我们对供受体 HLA 抗原匹配评价的准确性。但它仍有一个不足,就是把不同人来源的同一个 HLA 抗原,如 A23,在 40 个位点上

的三联体均看作是一样,固定不变的。事实上可能不完全是这样,但少数个体的变异可能并不影响该评价方法的使用价值。

氨基酸三联体配型方法的原始目的是为高敏感或 2 次移植等超急排高危受体人群研究设计挑选供体用的,但经分析发现其在常规器官移植前对供受体间的筛选,移植后免疫排斥反应(抗体的产生与否及抗体特异性)的预测等方面均具有较重要的意义。本文我们仅说明了 HLA-I 类抗原的评价在供受体配合优劣方面的重要性,HLA-II 类抗原也存在同样的问题。建立一个理想的供受体 HLA 配合程度评价方法将有助于目前器官移植 5 a 及 10 a 存活率的进一步提高。

结论:氨基酸三联体方法从分子水平比较,有多个参数供我们参考,将有利于提高我们对供受体 HLA 配型评价的准确率。

#### 参考文献:

- [1] Stobbe I, van der Meer-Prins EM, de Lange P, Oudshoorn M, De Meester J, Doxiadis II, Claas FH. Cross-reactive group matching does not lead to a better allocation and survival of donor kidneys [J]. *Transplantation*, 2000; 70(1): 157-161.
- [2] Duquesnoy RJ, White LT, First JW, Vanek M, Banner BF, Iwaki Y, Starzl TE. Multiscreen serum analysis of highly sensitized renal dialysis patients for antibodies toward public and private class I HLA determinants. Implications for computer-predicted acceptable and unacceptable donor mismatches in kidney transplantation [J]. *Transplantation*, 1990; 50(3): 427-447.
- [3] Rodey GE, Neylan JF, Whelchel JD, Revels KW, Bray RA. Epitope specificity of HLA class I alloantibodies. I. Frequency analysis of antibodies to private versus public specificities in potential transplant recipients [J]. *Human Immunol*, 1994; 39(4): 272-280.
- [4] Rodey GE, Revels K, Fuller TC. Epitope specificity of HLA class I alloantibodies. II. Stability of cross-reactive group antibody patterns over extended time periods [J]. *Transplantation*, 1997; 63(6): 885-893.
- [5] Duquesnoy RJ, Marrari M. Determination of HLA-A, B residue mismatch acceptability for kidneys transplanted into highly sensitized patients: A report of a collaborative study conducted during the 12th international histocompatibility workshop [J]. *Transplantation*, 1997; 63(12): 1743-1751.
- [6] Rene JD, Li YP. Yizhi Mianyi Shengwuxue (Transplantation immunobiology) [M]. Beijing: Kexue Chubanshe (Science Publishing House), 2000: 471-477.