

· 论著 ·

HLA 配型、PRA 检测在心脏移植中的应用研究*

潘 莉 王春生

摘要 目的:探讨人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)配型、群体反应性抗体(panel reactive antibody, PRA)与心脏移植术后急性排斥反应及近期生存的关系。方法:将心脏移植受者根据不同的 HLA 配型标准,按错配数分组;根据 PRA 检测阳性或阴性分组。统计各术后 3、6、12 个月内急性排斥反应发生率并行生存分析。结果:HLA 配型不同错配数间急性排斥反应发生率及生存曲线无显著差异;PRA 阳性和阴性组间急性排斥反应发生率及生存曲线也无显著差异。结论:就我国目前国情而言,心脏移植术前不进行常规 HLA 配型也是可行的, PRA 阳性者通过适当的干预治疗也可获得安全的移植。

关键词 心脏移植; 人类白细胞抗原; 群体反应性抗体

中图分类号 R654.2 **文献标识码** A

The Role of HLA Typing and PRA Testing in Heart Transplantation PAN Sun WANG Chunsheng Department of Cardiac Surgery, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032

Abstract **Objective:** To investigate the role of HLA typing and PRA testing in heart transplantation. **Methods:** Recipients were grouped according to different HLA typing criteria or PRA testing results. Acute rejection within 3, 6, 12 months after transplantation and short-term survival curves were analyzed respectively. **Results:** There was no significant difference of acute rejection and short-term survival curves between different HLA mismatching groups or between PRA positive and negative groups. **Conclusion:** It is feasible not routinely typing HLA before heart transplantation in present practice. PRA positive recipients could also acquire safe transplantation through appropriate therapy.

Key Words Heart transplantation; Human leukocyte antigen(HLA); Panel reactive antibody(PRA)

人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)是介导移植排斥反应的主要抗原, HLA 配型对于器官移植有着重要意义。群体反应性抗体(panel reactive antibody, PRA)代表血液循环中的抗 HLA 抗体, 尤其是特异性抗 HLA 抗体, 是影响移植存活和排斥反应发生的重要因素。为了探讨 HLA 配型、PRA 检测在心脏移植中的应用价值, 我们回顾研究了 HLA 配型、PRA 检测结果与心脏移植受者急性排斥反应及近期生存率的关系。

1 资料与方法

1.1 研究对象 2000 年 5 月~2005 年 11 月, 在本院接受原位心脏移植的患者中, 具有完整供受体 HLA-A、B、DR 配型资料的 23 例, 其中男性 17 例, 女性 6 例; 平均年龄(48 ± 15)岁; 具有 PRA 资料的 48 例, 其中男性 37 例, 女性 11 例; 平均年龄(47 ± 15)岁。所有受者均为初次心脏移植。术后采用三联免疫抑制治疗: 环孢素+霉酚酸酯+泼尼松(CsA+MMF+Pred)或他克莫司+霉酚酸酯+泼尼松(FK506+MMF+Pred)。PRA 阳性者手术后当天加用抗胸腺细胞球蛋白诱导治疗。

1.2 HLA 配型 HLA I、II 类抗原的分型采用序列特异性引物聚合酶链反应法(Bio-Rad 公司 PTC-100 扩增仪)。分别按传统 HLA-A、B、DR 配型和氨基酸

残基配型^[1]计算错配(mismatch, MM)。3 个位点 6 个抗原均错配的 MM 为 6, 5 个抗原错配的 MM 为 5, 以下依次类推。

1.3 PRA 检测 手术前以酶联免疫吸附法(Bio-Tek Instruments 公司 Elx800NB ELISA 分析仪, One Lambda 公司 LAT1240 抗原板及配套试剂)检测受者血清中特异性 HLA-I 类、II 类 IgG 抗体, 确定抗体水平, 大于 10% 为阳性。

1.4 手术方法 常规开胸, 建立体外循环。降温至 28℃ 左右, 分别阻断上、下腔静脉及升主动脉, 切除病变心脏。采用 Stanford 标准原位心脏移植术式或双腔静脉法原位心脏移植术式。前者供心按左房、右房、主动脉、肺动脉吻合; 后者供心按左房、下腔静脉、升主动脉吻合后开放主动脉, 再进行肺动脉、上腔静脉吻合, 完成手术。

1.5 急性排斥反应的判断 心内膜心肌活检是目前诊断心脏移植后排斥反应最可靠的手段, 但由于为有创性检查, 价格较高, 有一定的并发症风险, 给患者造成一定心理压力, 故本组病例多采用临床症状、体征+心电图+胸片+超声心动图表现+心肌血清学检测等无创性检查手段结合心内膜心肌活检综合判断。

1.6 统计方法 采用生存分析, 组间比较采用 Logrank 检验, 用 SAS 统计软件。

2 结 果

具有完整供受体 HLA 资料的 23 例患者中, 按传统 HLA6 抗原配型标准分组, A 组(3~4 MM)11 例, B

* 上海市科委重大项目(NO. 024119001)

作者单位: 复旦大学附属中山医院心外科, 上海 200032

组(5~6 MM)12 例。若仅考虑 DR 位点进行分组,A 组(1 MM)10 例,B 组(2 MM)13 例。按氨基酸残基配型标准分组,A 组(1~2 MM)7 例,B 组(3~5 MM)16 例。各组 3、6、12 个月内累计急性排斥反应发生及死亡例数见表 1。

具有 PRA 资料的 48 例患者中,阳性组 5 例,阴性组 43 例。两组 3、6、12 个月内累计急性排斥反应发生及死亡例数见表 2。

表 1 HLA 不同错配数组的累计急性排斥反应发生及死亡数(例)

配型	3 个月		6 个月		12 个月	
	排斥反应	死亡	排斥反应	死亡	排斥反应	死亡
六抗原						
3~4 MM	0	1	0	2	1	2
5~6 MM	0	0	1	1	2	2
DR 位点						
1 MM	0	0	0	2	1	2
2 MM	0	1	1	1	2	2
氨基酸残基						
1~2 MM	0	0	0	1	1	1
3~5 MM	0	1	1	2	2	3

注:各分类方法 2 组间比较, P 均 >0.05 。

表 2 PRA 分组的累计急性排斥反应发生及死亡数(例)

分 组	3 个月		6 个月		12 个月	
	排斥反应	死亡	排斥反应	死亡	排斥反应	死亡
PRA 阳性组	0	0	0	0	0	0
PRA 阴性组	2	3	6	5	7	8

注:2 组间比较, P 均 >0.05 。

3 讨 论

虽然 HLA 在介导移植排斥反应中有重要作用,但 HLA 配型在心脏移植中的临床意义尚有争论。HLA 系统具有高度多态性,根据世界卫生组织 HLA 系统命名委员会的数据,截至 2005 年 10 月已发现的 HLA I 类和 II 类等位基因的总数达到 2184 个。按传统 HLA6 抗原配型标准,在无关供者中找到无错配供心十分困难。事实上,HLA 相配几率的大小在很大程度上取决于等待接受心脏移植患者的数量。根据统计学原理计算,受者样本池大小为 100 例时,6 抗原无错配的概率是 2.4%。由于我国尚未建立捐献器官分配网络,并且供心切取后冷缺血时间(cold ischemia time, CIT)一般需控制在 5~6h 内,不允许进行远距离运输。所以 1 个供心往往仅可能为 1 个移植中心所用。以作者所在中心为例,同时等待接受心脏移植患者的数量通常不超过 5 例。由此可见,追求 6 抗原无错配会增加等待移植者的死亡危险而丧失移植机会。美国加州大学洛杉矶分校(UCLA)在供心切取前进行 HLA 配型,但这在我国尚不可行。而在供心切取后进行 HLA 配型会延长冷缺血时间。相对于 HLA 相容程度,冷缺血时间对移植心存活的影响更显著。同时,随着新型免疫抑制剂的应用,器官移植的短期生存率有了极大

的改善,也使 HLA 配型的必要性受到质疑。

本研究表明无论是传统的 HLA6 抗原配型标准,还是氨基酸残基配型标准,抑或仅 DR 位点配型,对心脏移植受者的急性排斥反应发生率及近期死亡率均无影响。而且影响移植心存活的因素有很多,包括重复移植、供受者年龄、原发病、冷缺血时间等。所以就我国目前国情而言,心脏移植术前不进行常规 HLA 配型亦是可行的。有研究^[2]认为移植后长期生存率与 HLA 相容程度显著相关,HLA 相容可减少心脏移植排斥反应的发生,减少甚至停用激素,改善长期生存率。如果能开发新的、快速的 HLA 分型技术,在 CIT 允许范围内完成配型,建立完善的器官分配网络,提高相配的几率;或寻找到更实用的、临床可行的配型策略,就可能在供心分配方案中加入 HLA 配型标准,从而改善长期生存率^[3]。

PRA 的临床应用也值得探讨。抗 HLA-IgM 通常是自身抗体,不损伤移植物。抗 HLA-IgG 包括 I 类和 II 类抗体,两者均会对心脏移植受者产生不良影响。大部分学者认为 PRA 阳性,会增加超急性排斥反应和急性排斥反应的发生率,并增加死亡率。而本研究中 PRA 阴性和阳性者的急性排斥反应发生率和近期生存率无显著差异。可能的原因有:新型免疫抑制剂的应用使急性排斥反应的临床表现不典型;心内膜心肌活检进行较少使排斥反应检出率低。另外,造成 PRA 水平升高的主要原因有多次妊娠、反复输血、移植史、手术史以及安装心室辅助装置等。此类患者较少从而使 PRA 阳性者少。

高 PRA 水平并非心脏移植的绝对禁忌,原因之一是受体血清中测得的抗 HLA 抗体不一定针对供体抗原。本研究中 1 例患者为心脏肉瘤切除术后,2 次手术行心脏移植。PRA 检测 I 类抗体 92.9%,II 类抗体 27.5%,术后随访至今 8 个月余未发生超急性排斥反应或急性排斥反应。对于 PRA 阳性者应确定抗 HLA-IgG 抗体的特异性。此外,根据抗 HLA 抗体的水平和性质,可采用适当的治疗方法调节机体的免疫状态,以重新获得安全的移植。移植后监测 PRA 水平,有助于判断机体的免疫状态,预测排斥反应,并指导免疫抑制剂的应用^[4]。

参考文献

- 1 谭建明,主编.组织配型技术与临床应用[M].北京:人民卫生出版社,2002:410-411.
- 2 Smith JD, Rose ML, Pomerance A, et al. Reduction of cellular rejection and increase in longer-term survival after heart transplantation after HLA-DR matching[J]. Lancet, 1995, 346(8986): 1318-1322.
- 3 Thompson JS, Thacker LR 2nd, Takemoto S. The influence of conventional and cross-reactive group HLA matching on cardiac transplant outcome: an analysis from the United Network of Organ Sharing Scientific Registry[J]. Transplantation, 2000, 69(10): 2178-2186.
- 4 Tambur AR, Pamboukian SV, Costanzo MR, et al. The presence of HLA-directed antibodies after heart transplantation is associated with poor allograft outcome[J]. Transplantation, 2005, 80(8): 1019-1025.