

HLA 配型在心脏移植中的意义^{*}

第一军医大学南方医院胸心外科(广州 510515) 邹小明 王武军 武大林¹ 王从容¹ 张 振

目的: 探讨人类白细胞抗(HLA)配型在心脏移植中的临床意义。**方法:** 采用聚合酶链反应—序列特异性引物(PCR—SSP)技术进行供受者外周血 HLA 基因分型,采用单克隆抗体法进行 HLA—I 类抗原分型。结果: 供受体之间 HLA 有 6 个抗原相合: A24(9), Bw6, DR15(2), DRw51, DRw52 和 DQ6(1), 有 5 个抗原相合: A30(29), B54(22), Bw4, DR17(3)和 DQ2, 术后患者心功能正常, 术后 160d 无排斥反应。结论: 良好的 HLA 配型对减少心脏移植排斥反应, 提高移植存活率具有重要意义。

关键词 人类白细胞抗原 配型 心脏移植

分类号 R541

HLA MATCHING IN ORTHOTOPIC HOMOLOGOUS HEART TRANSPLANTATION

Zou Xiaoming, Wang Wujun, Wu Dalin, et al.

Department of Cardiac Surgery, NanFang Hospital, the First Military Medical University, Guangzhou 510515

[Abstract] Objective: To elucidate the clinical significance of human leukocyte antigen (HLA) matching in donors and recipients of heart transplantation. **Method:** Donor and recipient HLA class II gene typing was performed by PCR amplification with sequence specific primers (PCR—SSP) and HLA class I typing with special monoclonal tray. **Results:** There were 6 HLA antigens matching and 5 HLA antigens mismatching between donor and recipient. The patient was recovery without acute rejection. The heart function was normal. **Conclusions** Good HLA matching plays an important role in reducing the incidence of acute rejection and in improving the survival of heart transplants.

Key words: Human Leukocyte Antigen; Matching; Heart Transplantation

HLA 配型在器官移植中的重要性早已被公认,特别是 HLA—I 类(DR, DQ, DP)配型对提高器官移植的临床存活水平十分重要^[1, 2], 通过术前供受者 HLA 基因配型, 我院首例同种异体原位心脏移植获得成功并长期存活, 术后无排斥反应发生, 报道如下。

1 对象和方法

1.1 对象

受体 女, 43 岁, 身高 153cm, 体重 42kg, 劳力性气促, 心悸 5 年。体检: 营养一般, 全身浅表淋巴结无肿大, 双肺呼吸音清晰, 心界向左扩大, 肝脾不

肿大。化验检查: 血型 B 型, Rh(+); 肝功、肾功正常, 甲、乙、丙、丁、戊肝炎病毒抗体均阴性; HIV 阴性; 痰培养、阴道分泌物培养、血培养、尿培养阴性。胸部 X 线摄片示: 左上肺陈旧性肺结核, 心胸比率 0.68。超声心动图示左室扩大, 左心室射血分数 31%, 发病以来保守治疗效果差, 院内、外专家会诊确诊为扩张型心脏病(终末期), 心功能 IV 级。

供体 男, 24 岁。系外伤后脑死亡者, 体重 55kg, 身高 163cm。HIV 阴性。化验检查: 血型 B 型, Rh(+); 肝、肾功能、甲、乙、丙、丁、戊型肝炎病毒均阴性, 胸部 X 线摄片心肺无异常, 超声心动图示心脏结构, 功能正常。

供受体手术前抽外周静脉血行 HLA 基因分型, 随后在全身麻醉下行原位心脏移植手术。

^{*} 广东省自然科学基金项目资助课题(1999)31 号

样本:供、受体外周血分离血清各 8ml;试剂:HLA 类单克隆抗体平板,由美国 One—Lambda 分别提供,可检出 A 抗原位点 28 个, B 抗原位点 50 个;PCR—SSP HLA II 类抗原检测试剂盒,由中国医学科学院输血研究所与美国 G &T 公司研制提供,可检出 DRB₁ * 1~8 等位基因 DQB * 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9 等位基因。淋巴细胞获得 Ficoll 分离混合淋巴细胞;免疫磁珠分离 T、B 淋巴细胞。HLA—I 类抗原分型按每孔 2 000 个细胞加入 HLA—I 类单抗分型平板,室温孵育 1h,然后荧光染色固定,在倒置荧光显微镜下读板,电脑分析结果。

HLA—II 类 DNA 分型 DNA 抽提:采用快速简易盐分析法;特异性 PCR 扩增:扩增体系 10 μ l,体系组成包含基因组 DNA (100~300ng), 10 \times PCR 缓冲液, 2mmol/L MgCl₂ 10 μ mol/L 特异引物, 0.2 μ mol/L 内对照引物, 4 种 dNTP, 0.5UT taq 酶;扩增采用 PE 公司 480 型热循环仪,预变性 95 $^{\circ}$ C 5min,变性 95 $^{\circ}$ C 30^{S-1},退火 60 $^{\circ}$ C, 30^{S-1}延伸 72 $^{\circ}$ C, 90^{S-1}循环 30 次;结果检测:吸取 PCR 扩增产物 10 μ l,在 2% 琼脂糖凝胶中电泳, E. B 染色,照相。

2 结果

供受体单克隆抗体法对 HLA—I 类抗原和 PCR—SSP 法对 HLA—II 类抗原分型,结果见附表。

附表 供体与受体 HLA 配型结果

对象	HLA—A	HLA—B	—BW	HLA—DR	—DRw	HLA—DQ
供体	2 24(9)	13 40	6, —	11(5), 15(2)	51, 52	6(1), 7(3)
受体	24(9), 30(19)	54(22), —	4, 6	15(2), 17(3)	51, 52	6(1), 2

3 讨论

HLA 是人类最丰富多态性的遗传系统,它参与抗原提呈和同种异体移植物的识别,产生移植排斥。器官移植的成功与失败,主要取决于供体和受体 HLA 系统的相似程度,两个人的 HLA 系统越相似,主要组织相容性抗原就越相似,被移植的组织不被排斥的可能性就越大^[3]。

HLA 分型方法:HLA—I 类抗原分型常用技术有聚合酶链反应—序列特异性寡核苷酸探针杂交 (PCR—SSOP),聚合酶链反应—限制性片断长度多态性 (PCR—RFLP) 后向点杂交 (PCR—DHPLC),

hybridization), 聚合酶链反应—单链构象多态性 (PCR—SSCP), DNA 测序及 PCR—SSP 6 种,但前 5 种或操作复杂或成本高多限于研究用。国外多数实验室采用 PCR—SSP 技术 HLA—II 类基因分型^[4], PCR—SSP 法对 HLA 抗原进行分型具有高分辨度、高特异性、相对简便快捷的特点,其结果精确可靠、重复性好^[5]。

HLA 配型对心脏移植有意义并且被不断地进行深入研究^[6]。由于供心缺血、心脏缺血时间不能过长、保存困难等原因,一些人提出心脏移植只要求 ABO 相合,多数人 (Nieminer 1990, Alonso 1991, Fieguth 1991) 认为 HLA—A 对心脏移植意义不大^[6]。然而 Taylor CJ 等^[7]最近有关 HLA 配型对心脏移植术后短期或中期存活的作用的研究表明, HLA 0~2 个抗原不相合者 1 年生存率比 3~6 个抗原不相合者高 12%,而且 HLA—A 抗原相合的移植心脏比 2 个抗原不相合的移植心脏的存活率低 24%。经研究进一步提出 34% 的 HLA—A 抗原相合的移植心脏在 1~5 年中失功,而只有 5% 的 HLA—B 抗原相合的移植心脏在 1~5 年中失功,研究结论为 HLA—A 配型相合损害移植心脏,而 Valeri M 等^[8]报告 92 例心脏移植, 2 个以上 HLA—B, QR 抗原相合者 3 年存活率 100%, 0~1 个 HLA—B, QR, HLA—QR 抗原相合。Smith JD 等报道^[9] HLA—DR 抗原不相合与心脏移植术后 3 个月内排斥反应的发生次数有显著相关性, 1 个位点不相合排斥反应发生次数为 1.22, 而 2 个位点不相合的发生次数为 1.42 ($P<0.05$), 而且随着 HLA—DR 相合术后平均 43.1d, 2 个抗原不相合者平均术后 24.1d ($P<0.05$) 发生排斥反应。1992 年巴黎第 14 届国际移植学会 Oplez 报告实体器官移植时,如果 DQB 相合,移植后 1 年存活率提高 10%,且与 DR 是否相合无关^[7]。所以在心脏移植前对供、受体 DR 准确配型是有临床意义的。本例心脏移植供体和受体于术前进行 HLA 配型。我们采用单克隆抗体法对 HLA—I 类抗原分型,采用 PCR—SSP 技术对 HLA—II OD 分型。结果:供受体之间 HLA 有 6 个抗原相合 A24(9), Bw6, DR15(2), DRw51, DRw52, DQ6(1), 有 5 个抗原相合 A30(29), B54(22), Bw4, DR17(3), DQ2, 总体来测对 HLA—A, B, DR, DQ 四个主要位点,有 4 个抗原相合即供受体之间 HLA 为匹配

合, 由于 DR 有一抗原相合, DRw2 个抗原相合, DQ 有 1 个抗原相合, 故术后排斥反应发生率极低, 术后 160d 以来尚未见排斥反应征象。

参 考 文 献

1 Lee J. HLA System. New York; Spring Verlag, 1990; 27 ~ 53
2 Kinpper AJ, Hinney A, Schuch B, et al. Selection of unrelated bone marrow donors by PCR-SSP typing and subsequent nonradioactive sequence - based typing for HLA Dr 1/3/4/5, DQB1 and DPB1 alleles. Tissue Antigens 1994; 44: 275 ~ 284
3 约翰 B·詹金斯(美)著. 刘国瑞, 赵景春译. 人类遗传学. 北京: 中国医药科技出版社. 1990; 256 ~ 257
4 兰炯采, 张祖文, 张玉明, 等. HLA-DQB, PCR-SSP 基因分型技术. 实验血液学杂志, 1996; 4: 220 ~ 224

5 武大林, 张志梅, 曹 琼, 等. 单克隆抗体法和 PCR-SSP 法行脐血 HLA-DR, DQ 抗原分型的比较. 中华血液学杂志, 1999; 20: 662 ~ 663
6 杨天楹, 杨成良, 田洮嵩主编. 临床输血学. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1993; 122 ~ 130
7 Taylor CJ, Smith SI, Sharples LD, et al. Human Lenkocyte antigen compatibility in heart transplantation; evidence for a differential role of HLA matching on short- and medium- term. Patienesurvival Transplantation, 1997; 63; 1346 ~ 1351
8 Valeri M, Adorno D, Piazza A, et al. HLA-DR matching and graft survival in heart transplant. Transplant Proc, 1990; 22: 1906 ~ 1907
9 Bunce M, Taylor CT, Welsh KI, et al. Rapid HLA-DQB typing by eight polymerase chain reaction amplification with sequence-specific primers(PCR-SSP). Human Immunol 1993; 37: 2014 ~ 2015

(2001-02-11 收稿 唐 银审稿 曾文军编辑)

(上接第 65 页)

司生产的 2000 型 TCD 仪, 应用手持式 2MHz 搏脉冲探头, 从颞窗探查 MCA, 全部操作专人负责。Vn 以 cm/s 表示, 数据为 $\bar{x} \pm s$, 结果采用成对资料 *t* 检验法。

2 结果

MCGB 和 SGB 两组阻滞前后 MCA 血流动力学变化见附表。两组阻滞后 MCA Vm 均显著增高(左侧 $P < 0.01$, 右侧 $P < 0.05$)。

附表 两组阻滞前后 MCA 血流动力学变化 ($\bar{x} \pm s$, cm/s)

组别	例数	阻滞前		阻滞后	
		左侧	右侧	左侧	右侧
MCGB 组	32	71.8 ± 11.5	70.7 ± 12.1	86.9 ± 14.8 ¹⁾	77.7 ± 13.2 ²⁾
SGB 组	28	72.0 ± 10.6	70.9 ± 13.1	84.1 ± 11.1 ¹⁾	76.8 ± 12.4 ²⁾

注: 1) 与阻滞前比较 $P < 0.01$
2) 与阻滞前比较 $P < 0.05$

3 讨论

颈交感神经干由颈上、中、下神经节和节间支组成。颈下节常与第 1 胸交感神经节融合为星状节, 位于颈 7 横突前面至第一肋颈前面。因星状节所处位置深、后、低; 虽阻滞穿刺方法各异, 但共同特点是针尖都要接近或刺及颈 7 横突前侧, 均须将药液注于其基底部, 故穿刺、阻滞的并发症, 如刺入血管、声嘶、上肢麻木等较为常见, 迟发性局部血肿、气胸、椎管内阻滞等危险性潜在^[2]。鉴于在颈交感干上任何部位阻滞都可出现霍纳氏征和颈中节位于骨性标志明显的颈 6 横突前方, 故颈中交感神经节阻滞比

星状神经节阻滞更简便、安全、可靠。

切除颈交感神经对于正常平静状态下脑血流(CBF)的影响所获得的实验结果不尽一致, 但大部分研究认为急性交感神经切除, 引起 CBF^[3]。尽管支配脑动脉的交感神经主要来自颈上交感神经节, 但星状神经节阻滞仍可增加 CBF^[4], Geng 等^[5]研究发现即使去除上胸交感神经链仍可引起颈血管运动的变化。传统习惯上临床大多采用星状神经节阻断颈部交感神经, 本研究结果显示, MCGB 和 SGB 两组阻滞后 MCA Vm 均显著增高(左侧 $P < 0.01$, 右侧 $P < 0.05$), 提示 MCGB 和 SGB 同样能调节脑血流。因此, 对于治疗脑缺血性疾病, 操作简便、安全的 MCGB 可代替传统的 SGB, 以减少并发症的发生。

参 考 文 献

1 宋文阁, 类维富主编. 疼痛诊疗手册. 济南: 山东科学技术出版社. 1993; 144 ~ 146
2 周 易, 邓 靖, 余 明, 等. 颈交感神经节应用解剖与阻滞并发症及预防. 疼痛学杂志, 1994; 2(1): 1 ~ 3
3 Goplerud JM, Wagerle LC, Delivoria PM. Sympathetic nerve modulation of cerebral blood flow during asphyxia in newborn piglets. Am J Physiol 1991; 260: 1575 ~ 1580
4 Umeyama T, Kugimiya T, Ogawa T, et al. Changes in cerebral blood flow estimated after stellate ganglion block by single photon emission computed tomography. J Auton Nervsyst, 1995; 50: 339 ~ 346
5 Jeng JS, Yip PK, Huang SJ, et al. Changes in hemodynamics of the carotid and middle cerebral arteries befor and after endoscopic sympathectomy in patients with palmar hyperhidrosis; preliminary results. J Neurosurg, 1999; 90(3): 463

(2001-04-29 收稿 欧阳珊审稿 曾文军编辑)