

尸体与活体供肾移植术前微量淋巴细胞毒交叉配型结果及与肾移植效果的关系

钟涛¹, 廖贵益², 许伟¹, 程越¹, 胡海亮¹, 张循善¹, 卞茂红¹

摘要 回顾性分析同期完成的尸体与活体供肾移植术前微量淋巴细胞毒(CDC)交叉配型实验检测结果与术后临床效果的内在关系。尸体供肾移植组术前CDC检测结果相对于活体供肾移植组显著增高($P < 0.05$),术后受者死亡/肾丢失、排斥反应/延迟恢复发生率,尸体供肾移植组显著高于活体供肾移植组($P < 0.05$)。移植后在出现受者死亡/肾丢失、排斥反应/延迟恢复以及肺部感染这些不良事件时,尸体供肾移植组CDC检测结果在9%以上或者活体供肾移植组在4%以上的占比均显著高于未发生临床不良事件,两种不同来源的肾脏移植都应尽可能的选择术前CDC检测结果偏低的受者进行移植。

关键词 活体供肾; 尸体供肾; 不良事件; 交叉配型; 肾移植中图分类号 R 699.2

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2016)11-1704-04
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2016.11.036

在临床器官移植领域尤其是在肾移植手术前,补体依赖的微量淋巴细胞毒(complement dependent cytotoxicity, CDC)交叉配型实验一直都是作为移植前预防排斥反应发生的重要和必需的实验^[1-2]。随着新型免疫抑制剂的应用以及器官移植技术的不断完善,同种异体肾移植已成为治疗终末期肾脏疾病患者的最佳替代治疗方法^[3-4]。目前临床医师均普遍重视在术前针对受者体内预先存在的抗供者人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)的HLA抗体做检测以减少术后排斥反应及并发症的发生^[5-6],而移植前供受者间交叉配型实验可检测受者血清中特异性针对供者HLA抗原的同种抗体^[7]。笔者收集了137例初次肾移植患者的临床资料,对两种供体来源的移植术前以及术后与临床疗效相关的CDC实验检测结果进行对照研究,进一步探讨受

者在肾移植前做CDC实验检测的临床意义,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集安徽医科大学第一附属医院泌尿外科2008年1月~2016年2月首次行肾脏移植患者的临床资料。尸体供肾移植受者共53例,均明确诊断为慢性肾功能不全尿毒症期,其中男37例,女16例,18~58(39.23 ± 10.40)岁,ABO血型相同48例,相容5例,术前群体反应性抗体(panel reactive antibodies, PRA)检测均为阴性;活体供肾移植受者共84例,同样都明确诊断为慢性肾功能不全尿毒症期,其中男60例,女24例,16~56(32.75 ± 8.88)岁,ABO血型相同61例,相容23例,术前PRA检测同样均为阴性。活体供肾移植供者84例均为亲属,其中血缘亲属供肾79例(父母供给子女64例,子女供给父母1例,姑婶婶供给侄子2例,兄弟姐妹供肾12例),非血缘亲属供肾5例(丈夫供给妻子1例,妻子供给丈夫4例),均系自愿捐肾并严格遵守《人体器官移植条例》相关要求。

1.2 CDC交叉配型实验结果的测定 采用Ficoll-Hypaque密度梯度离心法,从活体供肾者外周血或尸体供肾者脾脏分离出淋巴细胞,用PBS调节细胞浓度至 $(2 \sim 2.5) \times 10^6/\text{ml}$ (每孔约2000个细胞)备用。在Terasaki-blank板上将每排第1孔设为细胞对照,第2孔设为补体对照,第3孔为血清对照,第4孔为阳性对照,第5孔为样本孔,每孔加无菌矿物油10 μl 和供者淋巴细胞1 μl ,另外还需加入1 μl PBS至第1孔(细胞对照),加3 μl 兔补体至第2孔(补体对照),加1 μl 受者血清至第3孔(血清对照),加1 μl 阳性血清和3 μl 兔补体至第4孔(阳性对照),加1 μl 受者血清和3 μl 兔补体至第5孔(样本孔)中,轻轻震荡摇匀,恒温(37 $^{\circ}\text{C}$)孵育60 min后每孔加入荧光终止剂5 μl ,室温放置15 min后于倒置相差荧光显微镜下计数200个淋巴细胞中死亡的淋巴细胞数,结果以百分数(%)表示。

1.3 统计学处理 采用SPSS 13.0统计软件进行

2016-08-05 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1508085SMH226)

作者单位: 安徽医科大学第一附属医院¹ 输血科、² 泌尿外科,合肥 230022

作者简介: 钟涛,男,硕士,主管技师;

卞茂红,男,副教授,主任技师,硕士生导师,责任作者, E-mail: mhbhian@126.com

分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用配对 t 检验, 方差不齐时采用秩和检验, 计数资料以例数及百分数表示, 采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受体基本临床资料及术前 CDC 实验结果比较

尸体供肾移植组患者年龄以及术前 CDC 实验结果显著高于活体供肾移植组 ($P < 0.05$), 见表 1。两种供体来源的移植术前 CDC 实验显微镜下可见: 死淋巴细胞体积稍大, 在荧光染色剂的作用下呈红色, 活淋巴细胞体积偏小, 在荧光染色剂的作用下呈绿色, 见图 1。

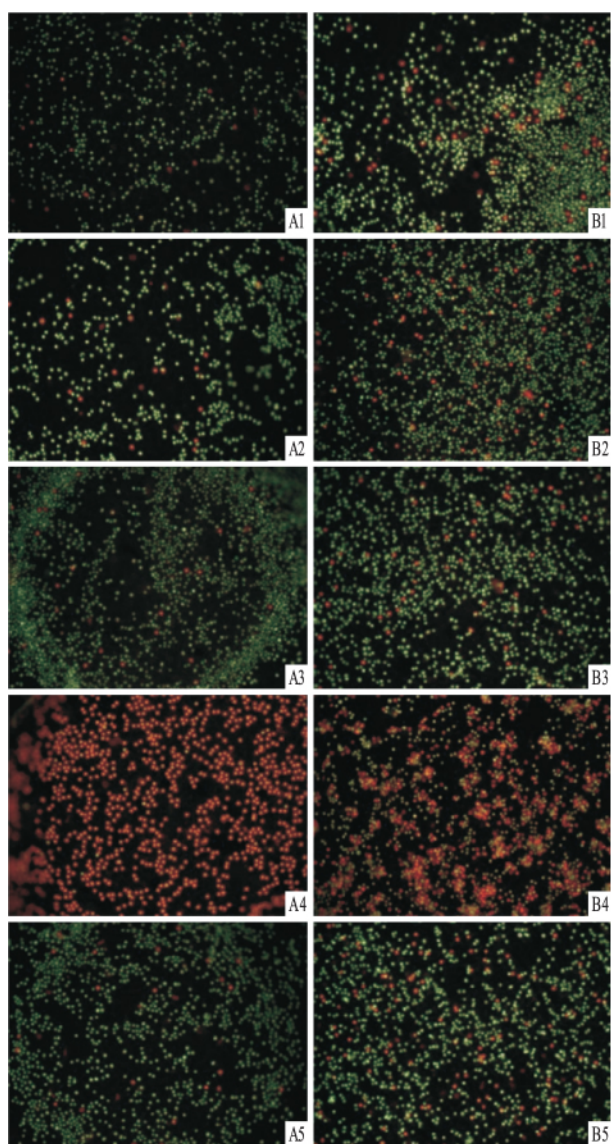


图 1 免疫荧光染色法观察 CDC 实验结果 $\times 200$

A: 活体供肾移植; B: 尸体供肾移植; 1: 细胞对照; 2: 补体对照; 3: 血清对照; 4: 阳性对照; 5: 样本

表 1 尸体与活体供肾移植一般临床资料及术前 CDC 实验结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	接受尸肾移植	接受活肾移植	P 值	χ^2/Z 值
性别(男/女)	37/16	60/24	0.839	0.041
年龄(岁)	39.23 $\pm$ 10.40	32.75 $\pm$ 8.88	0.001	-6.350
死淋巴细胞数(%)	6.55 $\pm$ 3.15	3.07 $\pm$ 1.89	0.001	-3.560

2.2 两种供体来源的移植术后一般临床效果的比较 尸体供肾移植组与活体供肾移植组在术后未发生临床不良事件率上无显著性差异; 尸体供肾移植组在术后 1 年内受者死亡/肾丢失率、排斥反应/延迟恢复发生率上显著高于活体供肾移植组 ($P < 0.05$), 而在肺部感染发生率上, 尸体供肾移植组要低于活体供肾移植组, 但差异无统计学意义, 见表 2。

表 2 两种供体来源的移植术后一般临床效果比较 [n (%)]

项目	尸体供肾移植 ($n = 53$)	活体供肾移植 ($n = 84$)	P 值	χ^2 值
术后未发生临床不良事件率	33(62.26)	53(63.10)	0.922	0.010
1 年内受者死亡/肾丢失率	13(24.53)	9(10.71)	0.032	4.600
排斥反应/延迟恢复发生率	11(20.75)	7(8.33)	0.036	4.393
肺部感染发生率	9(16.98)	19(22.62)	0.425	0.635

2.3 与临床效果相关的术前 CDC 实验结果比较

移植后活体供肾移植组在发生受者死亡/肾丢失时其术前 CDC 检查结果显著高于未发生临床不良事件的术前 CDC 检测结果 ($P < 0.05$), 除此之外, 两组移植在发生临床不良事件时其术前 CDC 检查结果与未发生临床不良事件的术前 CDC 检测结果比较均无显著性增加, 见表 3。但移植后在发生各种不良事件时尸体供肾移植组术前 CDC 实验检测结果在 9% 以上或者活体供肾移植组术前 CDC 实验检测结果在 4% 以上的占比与未发生临床不良事件相比均显著增高, 见表 4。

表 3 与临床效果相关的术前 CDC 检测结果的比较 ($\bar{x} \pm s$, %)

受体	CDC 实验结果(死淋巴细胞数)	
	尸体供肾移植组 ($n = 53$)	活体供肾移植组 ($n = 84$)
未发生临床不良事件	6.36 $\pm$ 2.93	3.00 $\pm$ 1.89
受者死亡/肾丢失	6.77 $\pm$ 3.94	4.22 $\pm$ 2.44*
排斥反应/延迟恢复	6.73 $\pm$ 4.08	3.43 $\pm$ 1.40
肺部感染	7.67 $\pm$ 2.78	2.89 $\pm$ 1.59

活体供肾移植组中与未发生临床不良事件比较: * $P < 0.05$

表4 两种供肾移植术前 CDC 检测结果
在各相关临床效果中占比情况的比较 [n(%)]

CDC 结果	未发生临床 不良事件	受者死亡/ 肾丢失	排斥反应/ 延迟恢复	肺部 感染
死淋巴细胞数 $\geq 9\%$ (尸体供肾)	7(21.21) (n=33)	8(61.53) (n=13)	6(54.55) (n=11)	5(55.56) (n=9)
死淋巴细胞数 $\geq 4\%$ (活体供肾)	10(18.87) (n=53)	5(55.56) (n=9)	4(57.14) (n=7)	4(21.05) (n=19)

3 讨论

近年来国内外医学工作者均将术前 PRA 检测阴性者作为移植受者的首选^[8-9],因此本次调查研究旨在探讨在 PRA 检测为阴性的情况下,不同来源的肾脏移植,术前 CDC 交叉配型结果的差异及与术后不良事件内在的关系,为临床医师在术前选择更加合适的供体提供意见和帮助。结果显示尸体供肾移植组 CDC 实验结果显著高于活体供肾移植组,这一方面可能因为本研究中活体供肾移植组供受者间 94% 以上有 3 代以内血缘关系,其体内存在的相同或部分相同的遗传染色体导致供受体间有更好的组织相容性;而另一方面与前文列出的排斥反应/延迟恢复、1 年内受者死亡/肾丢失的发生率相结合充分说明了 CDC 结果越高其术后发生急性排斥反应的可能性也就越大。大量研究^[4,10-11]表明肾移植术后的不良事件主要有患者死亡、移植物失功、移植物丢失、急性排斥反应、肾功能延迟恢复以及并发的各种感染。而在术后感染中危害程度最大的、病死率最高的即为肺部感染^[12]。因此,笔者本次研究将移植手术后的不良事件归为 3 大类,通过对这些临床资料的回顾性分析显示虽然两种来源的供肾移植在未发生临床不良事件率上差异无统计学意义,但在 1 年内受者死亡/肾丢失、排斥反应/延迟恢复的发生率上,尸体供肾移植组显著高于活体供肾移植组,然而在肺部感染发生率上活体供肾移植组反而略高于尸体供肾移植组,这可能与安徽医科大学第一附属医院活体供肾移植短期内死亡率低、围手术期大量免疫抑制剂的应用以及尸体供肾移植样本数总体偏小有关。

CDC 交叉配型实验是最早的也是最经典的临床器官移植领域实验技术,不同于 PRA 检测,它是特异性的针对供者体内抗体,实验简单易行。本研究显示,不管是对于尸体供肾移植还是活体供肾移

植,CDC 交叉配型实验结合 PRA 检测,对选择合适的受者、预防排斥反应及并发症的发生以及改善移植植物存活状况等方面都有重要意义。

参考文献

- [1] Kute V B, Vanikar A V, Gumber M R, et al. Kidney transplantation with positive complement-dependent lymphocytotoxicity crossmatch with negative flow crossmatching and luminex donor-specific antibodies [J]. *Ren Fail* 2013, 35(7): 1027-30.
- [2] 肖露露, 易燕, 叶欣, 等. 补体依赖-流式细胞术-淋巴细胞毒交叉配型实验方法的研究 [J]. *中华泌尿外科杂志*, 2006, 4(27): 79-82.
- [3] Pan G H, Chen Z, Xu L, et al. Low-dose tacrolimus combined with donor-derived mesenchymal stem cells after renal transplantation: a prospective, non-randomized study [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(11): 12089-101.
- [4] 梁涛, 蔡明, 李州利, 等. 活体供肾与尸体供肾: 1 个器官移植中心 2 年 65 169 例肾移植效果比较 [J]. *中国组织工程研究与临床康复* 2010, 14(31): 5717-20.
- [5] Pirim I, Soyoz M, Ayna T K, et al. De novo produced anti-human leukocyte antigen antibodies relation to alloimmunity in patients with chronic renal failure [J]. *Genet Test Mol Biomarkers* 2015, 19(6): 335-8.
- [6] Konvalinka A, Tinckam K. Utility of HLA antibody testing in kidney transplantation [J]. *J Am Soc Nephrol* 2015, 26(7): 1489-502.
- [7] Schlaf G, Pollok-Kopp B, Altermann W W. Sensitive solid-phase detection of donor-specific antibodies as an aid highly relevant to improving allograft outcomes [J]. *Mol Diagn Ther* 2014, 18(2): 185-201.
- [8] Wiwattanathum P, Ingsathit A, Thammanichanon D, et al. Significance of HLA antibody detected by PRA-Bead method in kidney transplant outcomes [J]. *Transplant Proc*, 2016, 48(3): 761-5.
- [9] Jun K W, Kim M H, Hwang J K, et al. Impact of pretransplant panel-reactive antibody level on renal graft survival in patients with a negative crossmatch and no donor-specific antibody [J]. *Transplant Proc* 2016, 48(3): 770-2.
- [10] Krogstrup N V, Bibby B M, Aulbjerg C, et al. A new method of modelling early plasma creatinine changes predicts 1-year graft function after kidney transplantation [J]. *Scand J Clin Lab Invest*, 2016, 76(4): 319-23.
- [11] 邢利, 曲青山, 蒋欣, 等. 肾移植术后早期感染类型分析 [J]. *中华医院感染学杂志* 2013, 23(12): 2875-7.
- [12] Li J J. Report: Clinical characteristics and treatment experience report of severe pulmonary infection after renal transplantation [J]. *Pak J Pharm Sci* 2015, 28(4): 1559-62.

网络出版时间: 2016-10-12 13:23:00 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20161012.1323.037.html>

康柏西普治疗渗出性老年性黄斑变性疗效观察

戴琰琰^{1,2}, 蒋正轩¹, 廖荣丰¹

摘要 收集经荧光素眼底血管造影(FFA)、相干光断层扫描(OCT)检查确诊为渗出性老年性黄斑变性的25只眼为观察对象,所有患眼按3+PRN方案,接受10 mg/ml康柏西普0.05 ml玻璃体腔注射,行注射前后自身对照研究。采用糖尿病视网膜病变早期治疗研究视力表检查最佳矫正视力(BCVA),OCT检查测量黄斑中心凹视网膜厚度(CRT)。对比分析治疗前后患眼BCVA、CRT的变化,同时观察随访期间眼部与全身不良反应情况。治疗后1、2、3个月及末次随访时患眼平均BCVA较治疗前提高,差异有统计学意义($t = 4.27, 6.43, 7.75, 7.36, P < 0.05$);平均CRT较治疗前降低,差异有统计学意义($t = 11.97, 10.49, 10.02, 8.67, P < 0.05$)。随访期间未见与治疗相关的严重眼部并发症及全身不良反应。

关键词 玻璃体腔注射; 渗出性老年性黄斑变性; 康柏西普

中图分类号 R 774.5

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2016)11-1707-03

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2016.11.037

年龄相关性黄斑变性(age-related macular degeneration, AMD)是眼科常见的致盲眼病之一,尤其是湿性的AMD致盲率较高。湿性AMD的病理特征是黄斑区出现脉络膜新生血管(choroidal neovascularization, CNV),常导致黄斑区出血、渗出、水肿、视网膜色素上皮脱离,晚期黄斑区广泛瘢痕化。因此患者视力遭到严重损害^[1-4]。目前对湿性AMD的治疗主要是使用抗血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)类药物来抑制新生血管生长。该研究采用玻璃体腔注射康柏西普对湿性AMD患者进行治疗,现做如下总结。

1 材料与方法

1.1 病例资料 收集2014年7月~2015年7月在安徽医科大学第一附属医院就诊并被确诊为湿性AMD的25只患眼作为研究对象。所有患者按3+

2016-07-21 接收

基金项目: 安徽高校省级自然科学基金项目(编号: KJ2013A147)

作者单位: ¹安徽医科大学第一附属医院眼科, 合肥 230022

²安徽省第二人民医院眼一科, 合肥 200041

作者简介: 戴琰琰, 女, 硕士研究生;

廖荣丰, 男, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: liaorfyf@126.com

Before surgery CDC test results and the internal relationship of clinical for cadaveric donor and living related donor kidney transplantation

Zhong Tao¹, Liao Guiyi², Xu Wei¹, et al

(¹Dept of Blood Transfusion, ²Dept of Urology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University Hefei 230022)

Abstract To analyze the effect of the complement-dependent cytotoxicity (CDC) crossmatch and the internal relationship with the clinical results. The results of the cadaveric donor before kidney transplantation surgery CDC test with respect to the living related donors transplantation were significantly higher ($P < 0.05$). After transplantation, for the death of the recipient (graft loss), graft rejection (incidence of delay recovery), cadaveric donor kidney transplantation group were significantly higher than that of living related donor kidney transplantation group ($P < 0.05$). The deceased donor kidney transplantation in the event of the death (graft loss), graft rejection (delay recovery) and lung infections these adverse events CDC test resulted in more than 9%, which was significantly higher than the clinical adverse events that had not occurred; living donor kidney transplant recipients in the event of the death (graft loss), graft rejection (delay recovery) and lung infections these adverse events CDC test resulted in more than 4%, which was also higher than the clinical adverse event which had not occurred. The lower results of the preoperative CDC test should be selected for the two different sources transplant recipient of the kidney transplant.

Key words cadaveric donor; living related donor; adverse event; crossmatch; kidney transplantation