

· 论 著 ·

蛋白 A 免疫吸附对致敏的肾移植等待患者疗效差异分析

刘华, 史珂慧, 高菊林, 何荃, 王萌, 薛瑾虹, 蒋红利

西安交通大学第一附属医院血液净化科, 陕西 西安 710061

摘要: 目的 探讨蛋白 A 免疫吸附治疗对群体反应抗体 (PRA) 致敏的肾移植等待患者的治疗效果, 并分析疗效差异的原因。**方法** 2015 年 12 月至 2018 年 6 月收治的 PRA 致敏的等待接受肾移植的维持性血液透析患者 11 例, 进行蛋白 A 免疫吸附治疗 31 例次, 测定每次治疗前后 PRA、抗人白细胞抗原 (HLA) 抗体、免疫球蛋白、血常规、肝功能、凝血等指标, 观察不良反应情况。**结果** 11 例患者 31 例次治疗均未出现不良反应, 与治疗前相比, 10 例患者 PRA 水平显著下降 [(8.152 ± 1.759)% vs (16.850 ± 2.369)% , $P < 0.01$]。在进行蛋白 A 免疫吸附治疗 2 ~ 3 次后, PRA 均转为阴性至 2.5%; 其 PRA 分型 9 例为 HLA-I 类抗体表型, 1 例为抗 HLA-I + II 类抗体混合表型, 该 10 例中 1 例成功进行同种异体肾移植术; 另 1 例连续治疗 2 次, PRA 在治疗前、后无变化, 其 PRA 分型为抗 HLA-DR53 抗体, 属抗 HLA-II 类抗体。31 例次免疫吸附治疗后免疫球蛋白 (Ig) G 明显下降 ($P < 0.01$), IgM、IgA 无明显变化 (P 均 > 0.05)。与治疗前比较, 治疗后 HGB、PLT、FIB、PT、TBIL、ALT、ALB 均无显著变化 (P 均 > 0.05), 仅 APTT 较治疗前增高 ($P < 0.01$)。治疗结束后, PRA 明显下降的 10 例患者, 1 个月后复查 PRA 指标再次升高, 也包括已经接受肾移植术的 1 例, 该例经严密观察临床症状及体征, 目前临床随访 2.5 年, 未发生排斥反应。**结论** 蛋白 A 免疫吸附能够降低维持性血液透析肾移植等待患者的血清 PRA 水平, 其疗效可能与 PRA 抗体分型有关。

关键词: 肾移植等待; 免疫吸附; 群体反应性抗体; 分型; 免疫球蛋白

中图分类号: R 392.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1674-8182(2019)04-0447-04

Difference of therapeutic effect of protein A – based immunoadsorption in sensitized patients waiting for renal allografts

LIU Hua, SHI Ke-hui, GAO Ju-lin, HE Quan, WANG Meng, XUE Jin-hong, JIANG Hong-li

Department of Blood Purification, The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710061, China

Corresponding author: JIANG Hong-li, E-mail: j92106@sina.com.cn

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of protein A-based immunoadsorption in patients sensitized by panel reaction antibody (PRA) waiting for renal allografts, and analyze the reasons of the difference of efficacy. **Methods** From December 2015 to June 2018, 11 PRA – sensitized maintenance hemodialysis patients awaiting for renal transplantation received 31 times of protein A immunosorbent therapy. PRA, anti human leukocyte antigen (HLA) antibody, immunoglobulin (Ig), blood routine, liver function and coagulation index before and after each treatment were detected. The adverse reactions were observed. **Results** No adverse reactions occurred in the treatment of 31 times for 11 cases. Compared with pre-treatment, the PRA level significantly decreased [(8.152 ± 1.759)% vs (16.850 ± 2.369)% , $P < 0.01$] and turned negative to 2.5% after 2 ~ 3 times of protein A-based immunoadsorption therapy in 10 cases in whom 9 cases had the phenotype of anti HLA-I antibody for PRA typing, and 1 case had the mixed phenotype of anti HLA-(I + II) antibody. One of the 10 cases was successfully performed renal allotransplantation. Another case was continuously treated for 2 times, while the PRA level unchanged compared with pre-treatment who had anti specific phenotype of anti HLA-DR53 antibody belonged to anti HLA-II antibody for PRA typing. After 31 times of protein A-based immunoadsorption therapy, IgG declined obviously ($P < 0.01$), while IgM and IgA unchanged (all $P > 0.05$). Compared

DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2019.04.004

基金项目: 西安交通大学第一附属医院新医疗新技术 (XJYFY-2017N50); 西安交通大学第一附属医院 2017 年院基金 (2017QN-26)

通讯作者: 蒋红利, E-mail: j92106@sina.com.cn

with before treatment, there were no significant changes in HGB, PLT, FIB, PT, TBIL, ALT and ALB after treatment (all $P > 0.05$), but only APTT increased after treatment ($P < 0.01$). After end of treatment, the PRA level increased again when re-checking at 1 month after treatment in 10 patients including 1 case of allograft kidney transplantation who had no rejection after clinical follow-up of 2.5 years by close observation of clinical symptoms and signs. **Conclusion** Protein A-based immunoadsorption can reduce serum PRA levels of patients waiting for renal allografts in performing maintenance hemodialysis, and its efficacy may be related to typing of PRA antibody.

Key words: Waiting for renal allograft; Immunoadsorption; Panel reactive antibody; Typing; Immunoglobulin

Fund program: New Medical Technology of the First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University (XJYFY-2017N50); The First Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University 2017 Hospital Foundation (2017QN-26)

同种异体肾移植术成为不少终末期肾病患者的首选治疗方法,因肾源短缺,等待肾移植的患者远远多于接受肾移植的患者。而在等待移植的患者中,因输血、感染、妊娠等各种原因导致一部分患者体内产生各种抗体[主要是抗人类白细胞抗原(HLA)-A、B、C、DR 等的抗体],临床称之为群体反应性抗体(panel reaction antibody, PRA), PRA 升高会增加排斥反应的发生,使得此类患者配型及手术机会更低,或是接受移植后导致移植失败或移植物低存活率。蛋白 A 免疫吸附是近年来新兴的血液净化技术,能够高选择性地清除体内的致敏物质,降低 PRA 阳性率,可以预防和减轻肾移植术后排斥反应^[1],且在美国血浆透析学会(ASFA)诊疗指南中明确推荐其为用于肾移植术前脱敏和术后抗排斥反应的血液净化疗法^[2]。我院 2015 年 12 月至 2018 年 6 月对 11 例高 PRA 患者进行了蛋白 A 免疫吸附治疗,其中 10 例治疗后 PRA 改善效果满意,1 例治疗前、后 PRA 结果无改变,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 12 月至 2018 年 6 月,西安交通大学第一附属医院收治的等待接受肾移植 PRA 致敏的维持性血液透析患者 11 例,原发疾病均为慢性肾小球肾炎,其中 2 例既往曾行同种异体肾移植术 1 次。6 例男性,5 例女性;年龄 24.0 ~ 58.0 (37.1 ± 6.6) 岁;血液透析龄 6.0 ~ 18.0 (22.2 ± 3.1) 个月;血管通路 9 例为自体动静脉内瘘,2 例为带隧道涤纶套导管;每周透析 2 ~ 3 次,每次 4 h。

1.2 入选条件 (1) PRA > 10%; (2) 签署知情同意书; (3) 排除免疫吸附使用禁忌者; (4) 研究经院伦理委员会审核同意。

1.3 蛋白 A 免疫吸附治疗方法 吸附治疗使用国产(广州康盛生物技术有限公司)康碧尔蛋白 A 免疫吸附柱。利用血浆分离器 Haemoselect® L 0.5 (B/BRAUN, 德国) 从患者体外循环的血液中分离出血浆,血流量 100 ml/min,分离血浆以 30 ml/min 的流

速通过血浆泵引入蛋白 A 免疫吸附柱,吸附时间为 10 ~ 15 min,通过控制吸附柱的吸附、再生,实现吸附-洗脱-平衡 3 个步骤组成的吸附循环(见图 1),10 个循环为 1 疗程,血浆量平均 4 500 ml,血液循环采用肝素抗凝;时间每次 7 h 左右。

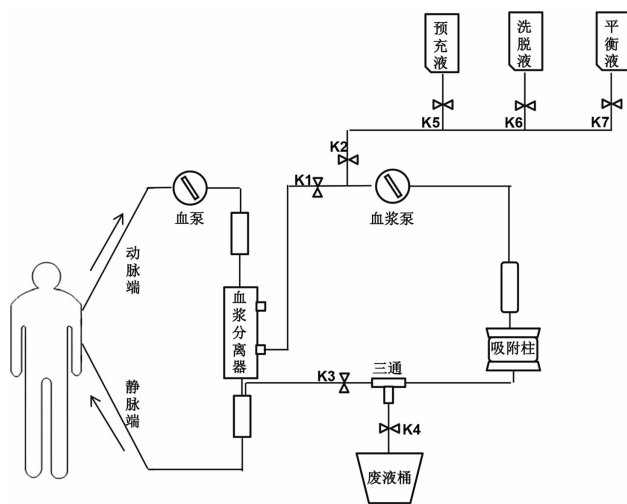


图 1 蛋白 A 免疫吸附流程图

1.4 观察指标 (1) 观察不良反应情况; (2) 每例次治疗前、后检测 PRA、免疫球蛋白(Ig) G、IgA、IgM、凝血指标[纤维蛋白原(FIB)、凝血酶原时间(PT)、活化部分凝血活酶时间(APTT)]以及血常规[血红蛋白(HGB)、血小板(PLT)]和肝功能指标[总胆红素(TBIL)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、白蛋白(ALB)]水平。其中 PRA 抗 HLA 抗体检测使用美国 One Lambda 公司提供的莱姆德混合抗原板(LAT1240),采用酶联免疫吸附分析法(ELISA); IgG、IgA、IgM 检测采用免疫比浊法,正常值范围 IgG: 7.0 ~ 16.0 g/L, IgA: 0.7 ~ 3.8 g/L, IgM: 0.4 ~ 2.3 g/L。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 18.0 统计软件处理分析数据。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,治疗前后的比较采用配对资料 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后及随访 PRA 水平变化 11 例患者 31

例次治疗 PRA 检测结果显示,第 1 次治疗后,10 例患者 PRA 水平即有明显下降,1 例维持原来水平。经免疫吸附治疗 2~3 次,10 例患者 PRA 检测在阴性~2.5% 之间,其特异性表型 9 例为抗人类白细胞抗原(human leukocyte antigen,HLA)-I 类,1 例为抗 HLA-I + II 类混合型;另 1 例患者 PRA 无变化,其表型为抗 HLA-II 类,且为单纯抗 HLA-DR53。31 例次蛋白 A 免疫吸附治疗后 PRA 水平与治疗前相比有明显下降 $[(8.152 \pm 1.759)\% \text{ vs } (16.850 \pm 2.369)\%, P < 0.01]$,总有效率为 90.323%。PRA 明显下降的 10 例患者,随访第 1 个月 PRA 即再次升高;其中 1 例患者经两次免疫吸附治疗后成功接受活体肾异体移植术,目前临床随访 2.5 年,未发生排斥反应等。

2.2 治疗前后免疫球蛋白水平 11 例患者 31 例次免疫吸附治疗,与治疗前相比免疫球蛋白 IgG 明显下降($P < 0.01$),而 IgM、IgA 水平无明显变化(P 均 > 0.05)。见表 1。

2.3 治疗前后凝血指标、血液常规及生化指标 11 例患者 31 例次治疗,与治疗前比较,治疗后 HGB、PLT、FIB、PT、TBIL、ALT、ALB 均无显著变化(P 均 > 0.05),仅 APTT 较治疗前增高($P < 0.01$)。见表 2。

表 1 蛋白 A 免疫吸附治疗前后免疫球蛋白水平
($n = 31, \text{g/L}, \bar{x} \pm s$)

时间	IgG	IgM	IgA
治疗前	8.739 ± 1.128	0.606 ± 0.093	3.124 ± 0.269
治疗后	3.237 ± 0.549	0.525 ± 0.082	2.629 ± 0.184
t 值	4.389	0.652	1.515
P 值	0.000	0.519	0.141

表 2 蛋白 A 免疫吸附治疗前后凝血、血常规及生化指标
($n = 31, \bar{x} \pm s$)

指标	治疗前	治疗后	t 值	P 值
HGB(g/L)	92.440 ± 6.414	92.890 ± 5.919	0.051	0.960
PLT($\times 10^9/L$)	227.700 ± 35.830	175.700 ± 30.280	1.108	0.284
FIB(mg/dl)	3.873 ± 0.399	3.357 ± 0.396	0.916	0.378
PT(s)	12.810 ± 0.817	16.940 ± 3.277	1.222	0.233
APTT(s)	37.010 ± 1.174	138.700 ± 14.630	6.930	0.000
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	6.575 ± 0.865	6.638 ± 0.654	0.058	0.955
ALT(U/L)	10.750 ± 2.474	17.250 ± 1.998	2.044	0.060
ALB(g/L)	42.530 ± 1.210	39.280 ± 1.328	1.809	0.092

2.4 不良反应 11 例患者共进行免疫吸附治疗 31 例次,吸附过程平稳,患者无不适主诉;血压、心率等生命体征平稳。

3 讨论

PRA 是 HLA 错配产生的 IgG 类型。HLA-I 类和 HLA-II 类抗体的出现均与急、慢性排斥反应有关^[3]。据美国器官共享联合网(United States organ

sharing network, UNOS) 统计,影响移植肾长期存活的因素按程度排序依次是:PRA、HLA-B 及 HLA-DR 抗原的错配、移植次数、移植前输血、供者年龄及种族差异。大量研究表明 PRA 与移植物存活和各种排斥反应密切相关,检测移植前 PRA 水平对预测排斥反应有重要作用,术前 PRA 水平越高,肾移植接受率越低,PRA 水平从 10%~80% 的患者接受肾移植机会只有 16%,而 PRA $> 80\%$ 的患者机会仅为 8%^[4],同时,PRA 水平高的患者术后发生急性排斥和慢性排斥的风险越高^[5],且长期的移植肾存活率和肾功能显著低于 PRA 阴性者^[6]。可见 PRA 监测在指导供体选择、预测预后和指导免疫抑制药物中的重要作用,对于术前高 PRA 的患者,降低 PRA 意味着增加移植机会,缩短等待时间,提高生活质量,减少术后排斥反应及移植物失功能。

蛋白 A 免疫吸附是近年来新兴的血液净化技术,能够高选择性地清除体内的致敏物质,已被临床应用来治疗自身免疫性疾病及其他一些与抗体相关的疾病^[7-9],在清除 HLA 抗体方面效果优于血浆置换,后者在清除抗体方面缺乏特异性且存在凝血因子消耗的缺点^[10]。蛋白 A 因其能与人的免疫球蛋白特异性结合,成为分离抗体的常用配基^[11],采用蛋白 A 吸附能迅速清除体内抗 HLA-I 及 HLA-II 抗体,降低 PRA 水平,但其对抗 HLA-I 类抗体清除可能优于抗 HLA-II 抗体。本研究首次报道 1 例患者治疗前后 PRA 无任何变化,其 PRA 阳性位点为单一抗 HLA-DR53,属于抗 HLA-II 类抗体,故蛋白 A 吸附治疗的差异效果考虑与 HLA 分型有关。当然蛋白 A 吸附并非对所有的抗 HLA-II 类抗体效果不佳,本研究中 1 例患者为抗 HLA-I + II 类混合型,经蛋白 A 免疫吸附亦转阴,目前尚未见报道。

蛋白 A 与不同免疫球蛋白的反应性和亲和力不同,其对 IgG 的结合率为 95% (IgG1 100%, IgG2 100%, IgG3 35%, IgG4 100%), IgM 50%, IgA 30%, IgE 6%~9%。有研究显示,单次的蛋白 A 免疫吸附对 IgG 的选择性明显高于连续三次的血浆置换对于 IgG 的选择性,而后者引起的 FIB 的下降明显高于前者^[11]。本研究中 11 例患者 31 例次免疫吸附治疗,与治疗前相比 IgG 明显下降,而 IgM、IgA 水平无明显变化。本研究结果还显示蛋白 A 免疫吸附治疗后 HGB、PLT、ALT、TBIL、ALB、FIB、PT 等指标较治疗前无明显变化,仅 APTT 时间增高,考虑与抗凝相关。

当然,免疫吸附只是清除了受者外周血中预存的致敏抗体,对受者体内合成和分泌抗体的免疫致敏细胞和免疫记忆细胞并未清除,若再次受到相同抗原刺

激,可再次发生免疫应答,我们随访中发现治疗结束后 1 月内即可再次呈升高趋势,但后续实验进行 PRA 高分辨检测,即通过给出反映每个抗体浓度的半定量值-平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI)^[12] 监测抗 HLA,发现其 MFI 中位数呈明显下降趋势,这一现象也存在于 PRA 结果变化不明显的患者。考虑到蛋白 A 与抗体的结合是可逆的,具有高度选择性及特异性,且免疫吸附柱可以重复使用,可多次进行免疫吸附治疗,选择交叉配型阴性、低 PRA 时进行移植,同时配合静脉注射免疫球蛋白等免疫抑制方案^[13],以提高致敏患者肾移植成功率及长期存活。

总之,蛋白 A 免疫吸附与另一种清除抗体的血浆置换方法相比,具备血液有形成分损伤少,血浆白蛋白、凝血因子基本无损失,无传染性疾病发生等优点,且疗效优于后者。但目前尚未见研究报道。蛋白 A 免疫吸附针对性抗 HLA- I、II 类抗体谱,其疗效差异考虑与 PRA 抗体分型有关,临床上是否能根据 PRA 具体分型结果预测蛋白 A 免疫吸附治疗结果,尚需大量临床病例总结。

参考文献

- [1] 林华,陈怀周,欧明林,等. 蛋白 A 免疫吸附治疗人类白细胞抗原抗体阳性肾移植受者的效果[J]. 国际移植与血液净化杂志, 2017,15(5):12-16.
- [2] Schwartz J,Padmanabhan A,Aqui N,et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice-Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis;The Seventh Special Issue[J]. J Clin Apher,2016,31(3):149-162.
- [3] 林华,陈结晶,陈怀周,等. Luminex 技术监测抗 HLA 抗体对肾移植受者预后的影响[J]. 器官移植,2016,7(5):386-389,393.
- [4] Cai J,Terasaki PI. Current trend of induction and maintenance treat-

ment in positive panel-reactive antibody patients: a report on OPTN/UNOS kidney transplant registry data [J]. Chin Med J,2011,124(5):649-654.

- [5] 陈国栋,史磊,邱江,等. 术前群体反应性抗体水平对肾移植接受率和术后长期疗效的影响[J]. 实用器官移植电子杂志, 2013,1(4):235-239.
- [6] Gloor J,Stegall MD. Sensitized renal transplant recipients: current protocols and future directions[J]. Nat Rev Nephrol,2010,6(5):297-306.
- [7] Liu JF,Wang WX,Xue J,et al. Comparing the autoantibody levels and clinical efficacy of double filtration plasmapheresis, immunoadsorption, and intravenous immunoglobulin for the treatment of late-onset myasthenia gravis [J]. Ther Apher Dial,2010,14(2):153-160.
- [8] Zhang YY,Tang Z,Chen DM,et al. Comparison of double filtration plasmapheresis with immunoadsorption therapy in patients with anti-glomerular basement membrane nephritis [J]. BMC Nephrol,2014,15:128.
- [9] Winters JL. Apheresis in the treatment of idiopathic dilated cardiomyopathy [J]. J Clin Apher,2012,27(6):312-319.
- [10] Maillard N,Absi L,Claissie G,et al. Protein A-Based Immunoadsorption Is More Efficient Than Conventional Plasma Exchange to Remove Circulating Anti-HLA Antibodies [J]. Blood Purif,2015,40(2):167-172.
- [11] 杜云英,张旭峰,陈校园,等. 重组蛋白 A 免疫吸附剂的制备及吸附性能[J]. 北京化工大学学报(自然版),2011,38(3):92-96.
- [12] Cecka JM,Kucheryavaya AY,Reinsmoen NL,et al. Calculated PRA: initial results show benefits for sensitized patients and a reduction in positive crossmatches [J]. Am J Transplant,2011,11(4):719-724.
- [13] Maignon M,Leibler C,Moranne O,et al. Anti-HLA sensitization after kidney allograft nephrectomy: changes one year post-surgery and beneficial effect of intravenous immunoglobulin [J]. Clin Transplant,2016,30(6):731-740.

收稿日期:2018-08-17 修回日期:2018-10-26 编辑:石嘉莹