

· 标准与规范 ·

《移植中与HLA相关的检测和临床管理问题的共识指南》解读

李代红, 刘伟, 杨丽, 赵一贺 (天津市第一中心医院输血科, 天津 300192)

在过去的半个多世纪, 随着免疫移植药物的不断发展和补体依赖性淋巴细胞毒 (complement-dependent lymphocytotoxicity, CDC) 试验、交叉配型、抗体检测等技术的不断进步, 器官移植后的多年存活率得到大幅度提升, 器官移植也逐渐成为治疗各种终末期疾病的有效措施。在过去 10 年中, 利用固相免疫测定 (solid-phase immunoassay, SPI) [1-2], 特别是基于 Luminex 平台的单抗原微球 (Luminex single-antigen bead assay, LSAB) 法, 使人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) 抗体检测的灵敏度和精确度大幅度提高。SPI 的使用一方面挑战了以 CDC 法和交叉配型为基础的既定临床规范, 另一方面也可敦促相关人员通过进一步的临床实践, 改进已有的规范框架。但新规范面临最大的问题是, 此前的危险分级都是通过 CDC 法和交叉配型结果、供体类型、免疫策略等进行的, 但是现今临床医生还缺乏如何利用高灵敏性 HLA 抗体检测指导临床的知识。

这一共识报告由 3 个工作组审议, 结果如下:

① 关于使用 SPI 进行抗体检测的技术问题; ② 在移植前如何运用 SPI 和其他技术进行免疫风险监测; ③ 移植后抗体监测的作用。

1 技术方面

1.1 技术比较

1.1.1 基于细胞的检测:传统 CDC [3]法和流式 CDC 法需要使用供体的新鲜细胞为标本, 可检测患者是否具有介导急性体液排斥反应的抗体 [4], 但其灵敏度较低。CDC 检测阳性是患者的移植禁忌。部分

实验室通过改进的 CDC 技术或使用流式交叉配型技术可以部分提高检测的灵敏度和特异性 [5]。流式交叉配型通过使用更为灵敏的荧光二抗检测抗体与靶淋巴细胞的结合, 并通过流式细胞仪进行定量。流式交叉配型阳性仅代表一种风险, 不一定是移植的禁忌。

1.1.2 SPI:商业化的 SPI 试剂盒使用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 或聚苯乙烯珠的固体基质结合外源表达的可溶性 HLA 分子作为抗原, 捕获患者血清或血浆抗体进行检测 [6-8]。ELISA 结果通过酶标仪检测, 最终通过与阴性对照的吸光度比率得出抗体结合的半定量评估。而基于微球的阵列测定是使用浸润两种不同比例荧光染料的聚苯乙烯珠, 理论上可产生高达 100 个可区分的微球。这些微球交联的 HLA 抗原与相对应抗体结合后, 加入荧光素标记的检测抗体, 最后通过激光扫描荧光编码来识别单个微球和测量“检测荧光”强度来确定被测分子的浓度。LSAB 检测的 HLA 特异性抗体结合水平以荧光信号的中位荧光强度 (median fluorescence intensity, MFI) 表示, 为半定量结果。

根据 HLA 靶抗原组成的不同, 可以将 SPI 检测分为 3 种类型: ① 混合抗原板, 其具有两个或多个不同微球群, 其中包被着从多个志愿者细胞亲和、纯化的 HLA-I 类 (HLA-A, HLA-B 和 HLA-C) 或 HLA-II 类 (HLA-DR, HLA-DQ 和 HLA-DP) 蛋白分子, 主要用于 HLA 抗体的筛查; ② 表型板, 每个微球包被的是来自单个个体细胞系的 HLA-I 类或 HLA-II 类蛋白; ③ 单抗原微球 (single-antigen bead, SAB), 每个微球包被

HLA-Ⅰ类或HLA-Ⅱ类单克隆等位基因抗原,能够进行精确的HLA抗体特异性分析。混合抗原板价格较为便宜,可以检测患者是否存在HLA抗体,但是不能获知HLA抗体的特异性。表型板类似于细胞测定方法,微球上存在多于一种HLA抗体特异性,比起混合抗原板和单抗原板,表型板需要更高的专业知识解读实验结果。SAB是最为敏感和特异的检测方法,其检测的HLA抗体分辨率最高,可以准确检测HLA抗体阳性位点,在高致敏患者的供体选择中发挥了重要作用。

SPI检测比较及其在不同类型器官移植中的应用见表1和表2。

1.2 技术的优点和缺点

1.2.1 CDC法: CDC检测法中一个无可争议的优点是可以预测(并可根据结果避免)超急性排斥反应(hyperacute rejection, HAR)的发生^[4]。而CDC法的缺点是检测灵敏度较低,需要大量的供体或淋巴细胞,并且其阳性结果可能由非HLA抗体造成。

另外, CDC检测的标准化较为困难,不能很好地获知患者抗体宽度,更不能对有复杂抗体谱的高度致敏患者区分抗体特异性。

1.2.2 流式交叉配型: 虽然流式交叉配型法同样受到非HLA抗体的影响,但其灵敏度明显高于CDC法,并且已被证明可用于检测供者特异性抗体(donor specific antibody, DSA)阳性值较低的患者。由于细胞计数方法、荧光染料、蛋白试剂和细胞与血清比例的差异,流式交叉配型标准化较难。另外, B细胞的流式交叉配型可能出现背景较高的情况,这种情况可通过加入链霉蛋白与靶向淋巴细胞温育而解决^[9]。但是,链霉蛋白酶处理可能影响HLA表达并导致T细胞交叉配型假阳性^[10]。因此,每个移植中心必须通过临床风险验证流式交叉配型的结果阈值。

1.2.3 SPI: LSAB法检测HLA抗体的灵敏度远高于传统CDC法和流式交叉配型法^[8],也高于ELISA免疫测定法^[7]。LSAB微球包被了所

表1 实体器官移植中抗体筛查和交叉配型的方法

方法	移植前筛查	移植前XM	评价	移植前基础信息	移植后	评价
CDC/改进CDC	+++	+++	预防HAR或早期AMR	+	-/+	需要供体细胞
FC/改进FC	+++	+++	预防HAR或早期AMR	+	+	需要供体细胞
普通ELISA	+++	-	检测HLA抗体	+	-/+	仅用于未致敏患者
特异性ELISA	+++	-	HLA抗体的特异性	(仅限于患者致敏)	++	低灵敏度
LUM混合抗原	+++	-	检测HLA抗	+	-/+	检测抗体宽度和水平
LUM表型	+++	-	HLA抗体的特异性	+	++	低灵敏度
LUM SAB	+++		综合的HLA抗体特异性	+	+++	综合位点/等位基因的特异性

注:检测法得分从不重要(-)到非常有价值(+++)。敏感性排名为LUM > ELISA > FC > CDC。但目前还没有令人信服的证据表明ELISA比FC更为敏感。AMR: 抗体介导的排斥反应; CDC: 补体依赖性淋巴细胞毒试验; ELISA: 酶联免疫吸附试验; FC: 流式交叉配型; HAR: 超急性排斥反应; HLA: 人类白细胞抗原; LUM: Luminex免疫测定(混合抗原、表型和单抗原微球); XM: 交叉配型

表2 不同种类器官移植的抗体筛查和交叉匹配方法

器官/单个或联合	移植前筛查	通用的方法	扩展的方法(SPI-SAB)	XM	评价
肾脏	+++	SPI±CDC/FC	(所有患者) ^a	CDC/FC/vXM ^a	预防HAR或早期AMR
心脏	+++	SPI±CDC/FC	所有患者	CDC/FC/vXM ^a	预防HAR或早期AMR
肺	+++	SPI±CDC/FC	所有患者	CDC/FC/vXM ^a	预防HAR或早期AMR
肝脏	+	SPI±CDC/FC			AMR
胰腺 ^b /胰岛	+++	SPI±CDC/FC	所有患者	CDC/FC/vXM ^a	预防HAR或早期AMR
肠	+++	SPI±CDC/FC	所有患者	CDC/FC/vXM ^a	预防HAR或早期AMR

注:a为根据不同地方国家政策。b为胰腺胰岛细胞可以用阳性XM移植。根据移植的器官使用的测试方法。在双重移植的情况下,应采用最严格的方法。测定法从不重要(-)到非常有价值(+++)得分。灵敏度为LUM > ELISA > FC > CDC。注意,目前还没有令人信服的证据表明ELISA比FC更为敏感。AMR: 抗体介导的排斥反应; CDC: 补体依赖性淋巴细胞毒试验; ELISA: 酶联免疫吸附试验; FC: 流式细胞术; HAR: 超急性排斥反应; SPI: 固相免疫测定; vXM: 虚拟交叉配型; XM: 交叉配型

有 11 个 HLA 基因座 (A、B、C、DRB1、DRB3、DRB4、DRB5、DQA1、DQB1、DPBA1 和 DPB1) 的常见和部分罕见 HLA 等位基因抗原,能精确检测出血清中含有的 HLA 抗体^[11]。另外,在此前常规试验中无法测出而又对肾移植排斥风险有重要提示作用^[12]的 HLA-Cw、HLA-DQA、HLA-DPA 和 HLA-DPB 抗体和抗体共有抗原表位 (epitope)^[13-14] 均能在 LSAB 中准确特异的检测出来。

SPI 结果是半定量的,可以根据 ELISA 和 MFI (Luminex) 将 HLA 抗体水平分为弱阳性、中阳性和强阳性。Luminex 表型板和 SAB 反应板均可在 4 小时内完成大规模的批次检测,因此这项技术可以在移植前和移植后作为常规检测,对体液排斥的发生和降低抗体方法的效果上进行诊断和评估^[15]。

SPI 检测法与 CDC 法、流式交叉配型法相类似,均需要相关的专业知识完成检测和报告解读 (表 3)。SPI 检测可以得出 HLA 抗体特异性与抗体水平 (MFI)。各移植中心应根据 MFI 范围或根据每个抗体特异性提供的 MFI 信息得出不可移植的 MFI 阈值^[11],并对免疫风险进行评估。值得注意的是,尽管基于 Luminex 的检测提供的是半定量数值,但是在同一个实验室经过对比实验后,将 LSAB 作为定性检测指导临床诊断。

1.3 与实验室数据库的结合:LSAB 结果复杂程度

较高,尤其体现在高致敏患者获得的抗体数据中。这就要求每个实验室自主开发 Luminex 分析软件和实验室信息系统连接程序,以实现抗体数据的高效准确分析。

1.4 影响 SPI 检测准确性的因素

1.4.1 抗原数量和质量变异性的影响:在某个制造商的 SAB 中,HLA-Cw、HLA-DQ 和 HLA-DP 具有较高的抗原密度,导致这些抗体的风险被高估^[11]。相反,一些针对公共抗原表位 (如 Bw4 或 Bw6) 的抗体有可能被低估,这是由于单个抗体可能被分散在多个微球上,导致 MFI 水平下降造成的。LSAB 使用可溶性 HLA 抗原的问题是它们不在天然环境中。HLA 抗原的正确构象取决于结合肽和相关 $\beta 2m$ (I 类),并且受糖基化的影响。微球的纯化和包被均可能导致抗原构象的改变,从而导致检测出临床上无关的抗体^[16]。

1.4.2 血清中固有物质的干扰:通过低渗透析从血清中去除或还原 IgM,可以增加阳性对照组的反应强度并降低阴性对照组的反应性,改进抗原特异性微球检测的准确性^[17]。但是,低渗透析后的 IgM 沉淀也可能通过非特异性结合捕获非目标微球。另一方面,某些患者血清中缺少某些抑制剂,使抗体直接与微球结合^[17],造成假阳性现象。另外,用 DTT 稀释或处理血清可降低一些抗体的反应性,增

表 3 Luminex HLA SAB 的技术优势和局限性

技术优势	技术局限性
能够检测弱抗体水平	试剂不标准
可测定抗体水平 (高,中,低)	变性 HLA 抗体可引起阳性结果
可以精确鉴定复杂血清 (DSA) 中的所有抗体特异性	批次变化需要验证,供应商特定变体
免疫球蛋白类别和同种型之间的检测 and 分化 (例如,补体固定和非补体固定 C4d 和 C1q)	偶尔的高背景结合需要重复测试和吸收方案
将抗体与 HLA-A, HLA-B, HLA-C, HLA-DRB1, HLA-DRB3/4/5, HLA-DQA1, HLA-DQB1, HLA-DPA1, HLA-DPB1	珠上可变 HLA 蛋白密度。阻塞因子可能导致抗体水平的假阴性或误导性低评估。IgM 和 C1 可阻断 IgG 结合
启用 DSA 实时抗体监测。HLAi 移植。移植前和移植后抗体监测 (AMR 的辅助诊断)。虚拟 XM 能够检测非 HLA 特异性抗体 (例如 MICA)	

注:AMR:抗体介导的排斥反应;DSA:供体特异 HLA 抗体;HLAi:HLA 不相容;MICA:主要组织相容性复杂类相关链 A;SAB:单抗原珠;XM:交叉配型

加其他抗体的反应性^[18]，但一些研究表明 DTT 处理后血清的 HLA 抗体强度与交叉配型结果缺乏良好的相关性^[17]。建议各实验室依据自身情况，根据 HLA 抗体强度与交叉配型结果的相关性，阳性微球值和阴性对照微球的 MFI 值，决定处理血清的方法及必要性。

1.4.3 外源物质的干扰：用于预防或治疗排斥反应的药物已被证明可以在 SPI 中引起 HLA 抗体干扰。这些药物包括高剂量（2 g/kg 体重）的静脉注射免疫球蛋白（intravenous immunoglobulin, IVIG）、抗胸腺细胞球蛋白（antithymocyte globulin, ATG）、蛋白酶体抑制剂硼替佐米和补体 C5 抑制剂依库单抗。其中，高剂量 IVIG 容易引起 HLA 抗体干扰已被广泛认可。研究表明，使用 IVIG 治疗的患者 LSAB 检测中阴性对照微球反应性比未使用患者增加了 5 倍以上^[19]。另外用 ATG 治疗也会导致明显的 HLA 特异性反应发生^[19]。而在硼替佐米或厄伐珠单抗治疗后的几天内，患者用 LSAB 检测 HLA 抗体的滴度明显下降^[19]，但在低渗透析处理血清后发现致敏 HLA 抗体滴度变化不大。

1.4.4 报告解读：重复性是 HLA 抗体检测结果得以正确解读的重要前提。在解读 DQ 或 DP 抗体特异性时，必须考虑 α 链（DQA 或 DPA）和特定 $\alpha\beta$ 链组合特异性表位对结果的影响^[20]。Epitope 特异性抗体的解读非常复杂，需要具有丰富经验和专业知识的人员并通过考虑以下因素，验证抗体结果的合理性：① 与同一患者此前的抗体检测结果和其他试验结果（如 CDC）进行一致性比较；② 确保患者自身 HLA 抗原和自身存在的 epitope 不体现在抗体报告中；③ 分析患者的同种异体免疫事件（即输血、怀孕或先前的移植）；④ HLA 阳性抗体的交叉反应性。患者的 HLA 分型、先前供体的 HLA 分型、有妊娠史妇女的孩子 HLA 分型结果均可用来验证 HLA 抗体报告的真实性和准确性。另外，患者的高分辨率 HLA 分型也可用于分析 HLA 抗体结果，这是因为同一血清型不同基因型 HLA 抗原之间存在一定的 epitope 区别，这种区别可能造成患者产生与自身抗原血清型一致但基因型不同的

HLA 抗体。另外，患者炎症事件也是分析抗体强度或广度突然增加的重要信息^[21]。

SPI 被广泛用于指导移植患者的治疗和定义供体不可接受的 HLA 抗原。在 SPI 检测中，应在可能的情况下减少或消除会对结果造成干扰的因素。HLA 抗体结果可能受到干扰的指标包括：① 阴性对照微球反应性高、阳性对照微球反应性低（每个实验室必须设定阴阳性对照水平受到干扰的标志）；② 在不存在任何特定治疗或事件的情况下，患者连续血清反应模式突然改变；③ 与 CDC 或流式交叉配型结果相悖；④ 患者出现自身 HLA 抗原反应性（认定自身 HLA 抗原时，HLA 抗体检测与患者 HLA 分型必须皆为高分结果）。

2 移植前抗体检测

2.1 肾移植前不可接受 HLA 抗原错配确定与风险评估：HLA 实验室的主要任务是确定所谓的不可接受 HLA 抗原错配（unacceptable HLA antigen mismatches, UA）。传统的 CDC 法和流式交叉配型法，由于敏感性不足，出现 UA 时也可能出现假阴性结果，导致移植存活率下降。LSAB 检测法的引入使 UA 达到了以前不能实现的精确测定^[6]。UA 的确定通常不仅仅基于 LSAB 的反应性，而是抗体反应性模式是否与识别的 epitope 一致（某些与 LSAB 反应性在同一交叉反应组或具有共同 epitope 的 HLA 抗原也应认作 UA）。另外，许多移植中心会将多次移植患者此前的供体与患者错配的 HLA 抗原均定义为 UA（无论患者是否存在这些 HLA 抗原对应的抗体）。

随着抗体检测技术的灵敏度不断提高，目前尚不清楚哪种抗体检测在什么灵敏度水平最适合于 UA 的测定。一直以来，由 CDC 法检测到的特异性 IgG HLA 抗体被认为是移植的禁忌，而通过其他方法检测到的 DSA 仅代表不同程度的移植风险^[22]。如今许多国外实验室不再使用 CDC 法检测，仅依靠 SPI 来确定供体抗原是否不可接受。虽然，有良好的临床结果表明肾移植和其他器官移植通过 SPI 检测到的 DSA 与排斥风险〔通常为抗体介导的排斥反应（antibody mediated rejection, AMR）〕增加

和较差的移植结果存在较强的相关性。但也有研究表明,仅SPI检测到而CDC和ELISA中未检测到抗体的患者,其移植后状态良好并具有良好的长期移植物功能^[23]。因此,目前很难设定SPI检测的可接受风险阈值。此外,MFI与交叉配型的相关性较弱,如果仅基于该参数,无法准确确定免疫风险。

2.2 高致敏患者的移植:移植前预存DSA是传统的移植禁忌之一。随着更为灵敏的SPI引入,使群体反应性抗体(panel reactive antibodies, PRA)高致敏患者得到越来越多的手术机会,而且也逐渐了解DSA的存在不总是移植的禁忌,而是风险因素。排斥和移植物失功风险可以通过两种方式降低:①选择不具有患者DSA的供体;②通过脱敏方案去除DSA。

2.3 高致敏患者的移植策略:首先,必须制订特殊程序提高PRA高致敏患者供体选择的优先级,增加高致敏患者不脱敏治疗选择到交叉配型阴性供体进行移植的机会。另外,研究表明,欧洲移植中心执行的可接受错配计划对于高致敏患者是非常有效的^[24]。其基础是通过epitope理论精确分析高致敏患者未形成抗体的HLA抗原和与患者自身HLA抗原不存在epitope错配的抗原。如果没有找到相容的供体,则可以通过脱敏治疗将DSA降低到一个安全阈值,并在免疫抑制剂的帮助下,至少在移植后几天至几周内将DSA维持在低水平。现有的DSA脱敏措施包括:血浆置换、免疫吸附、IVIG、利妥昔单抗、蛋白酶体抑制剂硼替佐米和补体C5抑制剂依库鲁单抗。

2.4 预存DSA对肾脏以外移植结果的影响:在心脏移植中,相关的临床研究发现患者预存DSA与排斥和移植结果呈明显的正相关关系^[25],并且有证据表明患者预存补体结合型DSA对移植结果极为不利^[25]。在肺移植方面,已有文章报道交叉配型阳性患者在移植后会出现HAR。因此,预存DSA在肺移植中也是有害的^[26]。一项大型研究表明,PRA阳性率大于25%的肺移植患者移植后效果较差^[27]。另外两项研究表明,对于预存DSA的肺移植患者,移植前脱敏治疗能降低术后急性排斥

反应和闭塞性细支气管炎发生的风险^[28]。在肝移植中,患者预致敏对移植结果的影响仍存在争议,因此,HLA检测和交叉配型并不是肝移植术前的常规检测。然而,最近的研究表明,患者移植前交叉配型阳性和移植前预存DSA与移植物存活率存在明显的负相关关系^[29]。Lunz等^[29]在最近的一项研究中发现,急性细胞排斥反应更容易在术前预存DSA和交叉配型阳性患者中出现,而且这些患者移植后3周的活检检查也显示C4d阳性。在肝肾联合移植中,此前的研究发现肝脏将会对肾移植排斥产生免疫保护作用^[30]。但最近涉及超过2484例肝肾联合移植的临床研究表明,预存DSA将会降低患者的整体生存率和移植肾存活率^[31]。关于肠移植的研究数据有限,但仅有的数据表明预存DSA对移植物存活有着显著的不良作用^[32]。此外,也有肠移植术前DSA阳性和交叉配型阳性患者术后发生急性AMR的临床病例记录^[33],且移植后新生DSA与急性细胞排斥发生频率与严重程度具有明显的相关性^[34]。在胰岛细胞移植中,两项研究报告表明流式CDC法和传统CDC法检测到的预存DSA对移植物存活有不良作用^[35]。此外在多中心登记报告中,移植前PRA(未确定是DSA)结果与胰岛细胞移植失败没有相关性,而移植后PRA则与移植不良结果相关^[36]。

3 移植后抗体检测

如今广泛认为HLA DSA是导致同种异体器官移植排斥反应发生和移植物衰竭的重要原因。是否或如何监测DSA水平取决于移植患者的特征与危险因素等(如首次移植或再次移植、男性或女性、未生育或已生育、未致敏或已致敏、未经输血或多次输血等)。

3.1 目前情况介绍:器官移植患者移植后的标准检测主要为移植物的生理学评估(如血清肌酐、FEV-1、ECHO、C-肽、肝酶和胆红素水平)。当移植物出现功能障碍而不能解释时,则对移植物进行活检明确其生理状态。目前,肾移植领域需要进行两项临床检测对患者移植物是否发生AMR进行诊断:①血清DSA检测;②活组织检测。其都能发

现移植中抗体介导损伤的证据。Banff 03 报告^[37]中总结了肾移植急性 AMR 的标准,包括发现 DSA 和具有 C4d 阳性的组织学和急性组织损伤的形态学证据(即急性肾小管坏死、肾小球炎、管周毛细血管炎或动脉-透壁炎症/纤维蛋白样化)。对于慢性 AMR, C4d 和 DSA 标准与急性 AMR 相同^[38],而组织学特征是肾小球病、血管周围毛细血管基底膜多层结构和移植动脉病变。

AMR 在心脏移植中的病理、临床和血清学定义则与肾移植有较大不同。最近发表的国际心肺移植协会共识中有个重要条例改变^[39],即心脏功能障碍和循环 DSA 不再是临床认定 AMR 的必需证据,这是因为最近的研究表明无症状(无心脏功能障碍)而活检证实 AMR 患者的病死率与移植心脏血管病变的风险更高。另外,在 AMR 发生期间,并不总是检测到 DSA,这是因为抗体可能被吸附到供体心脏或非 HLA 抗原(同样适用于肾脏或其他器官移植)。虽然 AMR 同样也会发生在肺、肝、胰腺、胰岛和多器官移植中^[40],但是目前还没有明确的 AMR 诊断标准。

3.2 移植后血清 HLA 抗体的筛查:在心脏移植患者中 AMR 发生率约为 10% ~ 20%, AMR 发生使移植植物病变和病死率增加。然而,并非所有实体器官移植患者的 AMR 发生风险都相同。如在肾移植中,预存 DSA 患者,移植后早期 AMR 发生的风险明显增加(约为 21% ~ 55%),而非预存 DSA 患者中,AMR 发生率仅为 1% ~ 6%^[41]。所以,患者移植术后 HLA 抗体的检测频率需要考虑患者 AMR 发生的风险状况。另外,经过治疗未能降低 DSA 水平的患者发生 AMR 的风险增加。

最近的研究表明,在肾移植中新生 DSA 的平均时间为移植后的 4 ~ 6 年,而在依从性差的患者中则会较早出现^[42]。10 年新生 DSA 发生率在遵循医嘱的患者中仅为 20%,而在不遵循医嘱的患者中是 60%。同样地,依从性较差的患者发生慢性 AMR 的风险也会增加^[43]。除了药物减量和依从性差之外,其他新生 DSA 的发生因素包括 HLA-DR 不匹配、发生早期细胞介导的排斥反应(临床和亚

临床)和受者年龄较小^[42]。

参考文献

- [1] Kerman RH, Susskind B, Buelow R, et al. Correlation of ELISA-detected IgG and IgA anti-HLA antibodies in pretransplant sera with renal allograft rejection [J]. *Transplantation*, 1996, 62 (2): 201-205.
- [2] Lee PC, Ozawa M. Reappraisal of HLA antibody analysis and crossmatching in kidney transplantation [J]. *Clin Transpl*, 2007: 219-226.
- [3] Garovoy MR, Rheinschmidt MA, Bigos M. Flow cytometry analysis: a high technology crossmatch technique facilitating transplantation [J]. *Transplant Proc*, 1983, 15 (3): 1939-1944.
- [4] Patel R, Terasaki PI. Significance of positive crossmatch test in kidney transplantation [J]. *N Engl J Med*, 1969, 280 (14): 735-739.
- [5] Zachary AA, Klingman L, Thorne N, et al. Variations of the lymphocytotoxicity test. An evaluation of sensitivity and specificity [J]. *Transplantation*, 1995, 60 (5): 498-503.
- [6] Pei R, Lee JH, Shih NJ, et al. Single human leukocyte antigen flow cytometry beads for accurate identification of human leukocyte antigen antibody specificities [J]. *Transplantation*, 2003, 75 (1): 43-49.
- [7] Zachary AA, Ratner LE, Graziani JA, et al. Characterization of HLA class I specific antibodies by ELISA using solubilized antigen targets: II. Clinical relevance [J]. *Hum Immunol*, 2001, 62 (3): 236-246.
- [8] Pei R, Lee JH, Chen T, et al. Flow cytometric detection of HLA antibodies using a spectrum of microbeads [J]. *Hum Immunol*, 1999, 60 (12): 1293-1302.
- [9] Lobo PI, Spencer CE, Stevenson WC, et al. The use of pronase-digested human-leukocytes to improve specificity of the flow cytometric cross-match [J]. *Transpl Int*, 1995, 8 (6): 472-480.
- [10] Hetrick SJ, Schillinger KP, Zachary AA, et al. Impact of pronase on flow cytometric crossmatch outcome [J]. *Hum Immunol*, 2011, 72 (4): 330-336.
- [11] Taylor CJ, Kosmoliaptis V, Summers DM, et al. Back to the future: application of contemporary technology to long-standing questions about the clinical relevance of human leukocyte antigen-specific alloantibodies in renal transplantation [J]. *Hum Immunol*, 2009, 70 (8): 563-568.
- [12] Dunn TB, Noreen H, Gillingham K, et al. Revisiting traditional risk factors for rejection and graft loss after kidney transplantation [J]. *Am J Transplant*, 2011, 11 (10): 2132-2143.
- [13] Cai J, Terasaki PI. Post-transplantation antibody monitoring and HLA antibody epitope identification [J]. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20 (5): 602-606.
- [14] Kosmoliaptis V, Bradley JA, Sharples LD, et al. Predicting the immunogenicity of human leukocyte antigen class I alloantigens using structural epitope analysis determined by HLA

- Matchmaker [J]. Transplantation, 2008, 85 (12): 1817–1825.
- [15] Higgins R, Lowe D, Hathaway M, et al. Human leukocyte antigen antibody-incompatible renal transplantation: excellent medium-term outcomes with negative cytotoxic crossmatch [J]. Transplantation, 2011, 92 (8): 900–906.
- [16] Pereira S, Perkins S, Lee J, et al. Donor-specific antibody against denatured HLA-A1: Clinically nonsignificant? [J]. Hum Immunol, 2011, 72 (6): 492–498.
- [17] Zachary AA, Lucas DP, Detrick B, et al. Naturally occurring interference in Luminex (R) assays for HLA-specific antibodies: Characteristics and resolution [J]. Hum Immunol, 2009, 70 (7): 496–501.
- [18] Kosmoliaptis V, Bradley JA, Peacock S, et al. Detection of immunoglobulin G human leukocyte antigen-specific alloantibodies in renal transplant patients using single-antigen-beads is compromised by the presence of immunoglobulin M human leukocyte antigen-specific alloantibodies [J]. Transplantation, 2009, 87 (6): 813–820.
- [19] Badders JL, Houp JA, Sholander JT, et al. Considerations in interpreting solid phase antibody data [J]. Hum Immunol, 2010, 71: S18.
- [20] Tambur AR, Leventhal JR, Friedewald JJ, et al. The complexity of human leukocyte antigen (HLA)-DQ antibodies and its effect on virtual crossmatching [J]. Transplantation, 2010, 90 (10): 1117–1124.
- [21] Locke JE, Zachary AA, Warren DS, et al. Proinflammatory events are associated with significant increases in breadth and strength of HLA-specific antibody [J]. Am J Transplant, 2009, 9 (9): 2136–2139.
- [22] Gebel HM, Bray RA, Nickerson P. Pre-transplant assessment of donor-reactive, HLA-specific antibodies in renal transplantation: contraindication vs. risk [J]. Am J Transplant, 2003, 3 (12): 1488–1500.
- [23] Otten HG, Verhaar MC, Borst HP, et al. Pretransplant donor-specific HLA Class-I and -II antibodies are associated with an increased risk for kidney graft failure [J]. Am J Transplant, 2012, 12 (6): 1618–1623.
- [24] Claas F, Witvliet MD, Duquesnoy RJ, et al. The acceptable mismatch program as a fast tool for highly sensitized patients awaiting a cadaveric kidney transplantation: Short waiting time and excellent graft outcome [J]. Transplantation, 2004, 78 (2): 190–193.
- [25] Chin C, Chen G, Sequeria F, et al. Clinical usefulness of a novel C1q assay to detect immunoglobulin G antibodies capable of fixing complement in sensitized pediatric heart transplant patients [J]. J Heart Lung Transplant, 2011, 30 (2): 158–163.
- [26] Mangi AA, Mason DP, Nowicki ER, et al. Predictors of acute rejection after lung transplantation [J]. Ann Thorac Surg, 2011, 91 (6): 1754–1762.
- [27] Shah AS, Nwakanma L, Simpkins C, et al. Pretransplant panel reactive antibodies in human lung transplantation: an analysis of over 10 000 patients [J]. Ann Thorac Surg, 2008, 85 (6): 1919–1924.
- [28] Stuckey LJ, Kamoun M, Chan KM. Lung transplantation across donor-specific anti-human leukocyte antigen antibodies: utility of bortezomib therapy in early graft dysfunction [J]. Ann Pharmacother, 2011, 46 (1): e2.
- [29] Lunz J, Ruppert KM, Cajaiba MM, et al. Re-examination of the lymphocytotoxic crossmatch in liver transplantation: can C4d stains help in monitoring? [J]. Am J Transplant, 2012, 12 (1): 171–182.
- [30] Fung J, Makowka L, Tzakis A, et al. Combined liver-kidney transplantation: analysis of patients with preformed lymphocytotoxic antibodies [J]. Transplant Proc, 1988, 20 (1): 88–91.
- [31] Dar W, Agarwal A, Watkins C, et al. Donor-directed MHC Class I antibody is preferentially cleared from sensitized recipients of combined liver/kidney transplants [J]. Am J Transplant, 2011, 11 (4): 841–847.
- [32] Sindhi R, Ashokkumar C, Mazariegos G, et al. Immune monitoring in small bowel transplantation [J]. Curr Opin Organ Transplant, 2010, 15 (3): 349–356.
- [33] Ruiz P, Carreno M, Weppeler D, et al. Immediate antibody-mediated (hyperacute) rejection in small-bowel transplantation and relationship to cross-match status and donor-specific C4d-binding antibodies: case report [J]. Transplant Proc, 2010, 42 (1): 95–99.
- [34] Tsai HL, Island ER, Chang JW, et al. Association between donor-specific antibodies and acute rejection and resolution in small bowel and multivisceral transplantation [J]. Transplantation, 2011, 92 (6): 709–715.
- [35] Campbell PM, Salam A, Ryan EA, et al. Pre-transplant HLA antibodies are associated with reduced graft survival after clinical islet transplantation [J]. Am J Transplant, 2007, 7 (5): 1242–1248.
- [36] Naziruddin B, Wease S, Stablein D, et al. HLA Class I sensitization in islet transplant recipients: report from the collaborative islet transplant registry [J]. Cell Transplant, 2012, 21 (5): 901–908.
- [37] Racusen LC, Colvin RB, Solez K, et al. Antibody-mediated rejection criteria – an addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection [J]. Am J Transplant, 2003, 3 (6): 708–714.
- [38] Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff '05 Meeting report: Differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN') [J]. Am J Transplant, 2007, 7 (3): 518–526.
- [39] Kobashigawa J, Crespo-Leiro MG, Ensminger SM, et al. Report from a consensus conference on antibody-mediated rejection in heart transplantation [J]. J Heart Lung Transplant, 2011, 30 (3): 252–269.
- [40] O'Leary JG, Kaneku H, Susskind BM, et al. High mean

fluorescence intensity donor-specific anti-HLA antibodies associated with chronic rejection postliver transplant [J]. *Am J Transplant*, 2011, 11 (9): 1868-1876.

[41] Baechler K, Amico P, Hoenger G, et al. Efficacy of induction therapy with ATG and intravenous immunoglobulins in patients with low-level donor-specific HLA-antibodies [J]. *Am J Transplant*, 2010, 10 (5): 1254-1262.

[42] Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, et al. Evolution and

clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant [J]. *Am J Transplant*, 2012, 12 (5): 1157-1167.

[43] Sellarés J, de Freitas DG, Mengel M, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence [J]. *Am J Transplant*, 2012, 12 (2): 388-399.

(收稿日期: 2018-06-06)

李代红, 刘伟, 杨丽, 赵一贺. 《移植中与 HLA 相关的检测和临床管理问题的共识指南》解读[J/CD]. 实用器官移植电子杂志, 2018, 6 (4): 243-250.

· 国外医学之窗 ·

同种异体移植的直接和间接识别：决定移植排斥反应机制的途径

由于供者和受者的抗原提呈细胞（APC）均能向受者 T 细胞呈递供者抗原，因此 T 细胞依赖的同种异体组织和器官识别过程显得十分复杂。在识别移植物的过程中，T 细胞的识别能力受主要组织相容性复合体（MHC）的类型限制，只能识别与其对应的供者 MHC（直接识别）或受者 MHC（间接识别）。以上两种识别途径已被广泛认可，但实际上何种因素决定同种异体移植识别的模式尚不明确。本文总结了来自临床前期动物模型的实验结果，旨在阐明上述识别途径决定的同种异体移植排斥的不同形式。

供者 MHC 限制性 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞足以对同种异体移植物产生排斥反应，它们是经 T 细胞受体（TCR）介导直接（“同源”）相互作用从而产生一系列效应分子来完成的。相反，“非同源”受者 MHC 限制性 CD4⁺ T 细胞必须与中介的受者 APC 相互作用。需要关注的是，研究人员通过一系列心脏移植急性排斥反应的研究发现，CD4⁺ T 细胞介导的排斥反应需要心脏同种异体移植物表达 γ -干扰素（IFN- γ ）受体，也需要由穿孔素和 / 或 FasL 参与的细胞毒功能。这与细胞毒性 CD8⁺ T 细胞介导的排斥反应完全一致。其他证据也佐证了具有供者 MHC 同源性的 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞在移植排斥反应中表现出惊人的相似性，提示其效应机制并非取决于 T 细胞亚群，而是由同种异体移植识别的本质决定的。

CD4⁺ T 细胞依赖的间接识别在引发同种异体移植免疫中有极大的可塑性。一方面，间接识别后的 CD4⁺ T 细胞可调控 B 细胞并激活巨噬细胞，进而增强移植排斥反应；另一方面，CD4⁺ T 细胞也能通过相同的途径在促进移植耐受中发挥重要作用。

综上所述，T 细胞针对同种异体移植有两种基本的识别模式：直接识别与间接识别。由于不同的免疫应答模式同时发生，并随时间相互影响和变化，分辨各类免疫细胞在识别通路中的确切作用是急性和慢性移植排斥反应治疗领域的一项长期挑战。

张桐硕, 王越 (审校), 编译自 *Curr Opin Organ Transplant*. 2016 Feb; 21 (1): 40-44

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28756627>