

小剂量多克隆抗体预防移植肾急性排斥反应^①

梁月有 郑克立 戴宇平

(中山医科大学附属第一医院泌尿外科; 广州, 510080)

摘要 目的: 探索能减少并发症, 减轻病人经济负担, 有效预防移植肾急性排斥反应的多克隆抗体的合理使用方案。方法: 选择肾移植患者 80 例, 根据使用多克隆抗体的时间不同分 3 组, 观察病人血 CD3⁺ 细胞数变化、急性排斥反应及并发症发生率, 作前瞻性研究。结果: 3 组病人急性排斥反应率, 术后 5 d 内 CD3⁺ 细胞数无统计学差异, 而使用抗淋巴细胞免疫球蛋白(ALG)时间较长者, 术后 6 d 后 CD3⁺ 细胞数少于其他组, 巨细胞病毒(CMV)病及一般感染率明显高于其他组。结论: 术后间歇使用小剂量 patients' ATG 及术后连续 3~6 d 使用常规剂量 ALG 是一种有效、安全、价廉的免疫抑制方案。

主题词 肾移植/免疫学; 免疫球蛋白类/治疗应用; 移植排斥/预防和控制

中图分类号 R 617; 692

USING SMALL DOSE POLYCLONAL ANTIBODIES TO PREVENT ACUTE REJECTION OF RENAL TRANSPLANT

Liang Yueyou Zheng Keli Dai Yuping

(Department of Urological First Affiliated Hospital of Medical Sciences, Guangzhou, 510080)

Abstract Objective: To study application of reasonable regimes of using polyclonal antibodies that can reduce complications, patients' expenses and prevent acute rejection of renal transplant. **Methods:** Eighty renal transplantation patients were divided into three groups according to length of treatment time of using polyclonal antibodies. The prospective study was carried out through investigation of blood CD3⁺ cell count, acute rejection and complication rates. **Results:** There was no statistic difference in acute rejection rate and CD3⁺ cell count five days after operation in three groups. But CD3⁺ cell count more than six days after operation was lower, CMV disease incidence and general infective rate were significant higher in the group with prolonged administration of ALG than that of other two groups. **Conclusion:** Intermittent usage of small dose ATG after operation or continuous usage of common dose ALG for 3~6 days after operation is an effective, safe and economic immunosuppressive therapy.

Subject headings: kidney transplantation/immunology; immunoglobulins/therapeutic use; graft rejection/prevention control

多克隆抗体制剂包括: 抗人胸腺细胞免疫球蛋白(ATG)及抗淋巴细胞免疫球蛋白(ALG)已广泛地应用于诱导肾移植的免疫抑制。在减少移植肾急性排斥反应率及移植肾功能缓慢恢复的发生率, 延长初始排斥反应时间及排斥间隔时间, 提高移植肾和病人存活率取得了显著效果^[1]。但对其适当的使用时间和剂量, 仍有很大争议。使用时间不当或剂量不足可影响疗效^[2], 而过量地使用可导致严重的副作用(如感染, 肿瘤的发生)^[3]。我院自 1995 年初, 发现肾移植病人发生巨细胞病毒(CMV)病有增加趋势, 且其死亡率较高。为了减少 CMV 病发生率, 我院自 1995 年 12 月开始选择 80 例病人作前瞻性的临床研究, 结果发现

使用短期小剂量的多克隆抗体预防移植肾的急性排斥反应, 效果显著, 报告如下

1 材料和方法

1.1 一般情况

1995 年 12 月~1997 年 9 月, 我院共行肾移植 243 例, 根据病人的经济状况及实验室条件(包括试剂提供)等, 从中选择 80 例作研究, 其中首次移植者 72 例, 第 2 次移植 8 例, 男 53 例, 女 27 例, 年龄为 13~70 岁, 平均为(40.07±

11. 70)岁。根据临床上使用多克隆抗体的方法不同将本组病例分3组: ATG 组, ALG₁ 组及 ALG₂ 组。3 组病人的一般情况如表 1。

全部病人术前作细胞毒性试验(CDC)均为阴性, 群体反应抗体试验(PRA)均为阴性, 而 3 组病人组织配型及供肾的热、冷缺血时间无明显差异。

表 1 3 组病人的一般资料
Table 1 General data of the three groups

	ATG group	ATG ₁ group	ATG ₂ group
Cases/ n	20	40	20
Male/ n	9	30	14
Female/ n	11	10	6
Age a/ yr	45.29±10.29	43.56±11.98	41.32±10.24
Primary nephropathy			
Chronic glomerulonephritis/ n	13	35	15
Gouty nephropathy/ n	2	1	0
Hypertensive renal disease/ n	1	2	1
Diabetic nephropathy/ n	3	1	2
Polycystic kidney/ n	1	1	1
Lupus glomerulonephritis/ n	0	0	1
Dialysis and duration:			
Duration t/ mon	17.32±9.43	20.76±10.0	16.73±8.32
Hemodialysis/ n	19	35	17
Peritoneal dialysis/ n	1	5	3
Frequency of renal transplant			
The first transplant/ n	19	36	17
The second time/ n	1	4	3

1.2 诱导免疫抑制方法

ATG 组: 术中移植肾血管开放前静滴 ATG (rabbit thymoglobulins Oberursel, German) 300 mg, 术后第 3~10 天每间隔 1~2 d 静滴 ATG 100 mg/d. ALG₁ 组: 术中移植肾血管开放前静滴 ALG (horse lymphoglobulins Institut Merieux, Lyon, France) 300 mg, 术后第 1 天开始连续 3~6 d 静滴 ALG 300 mg/d. ALG₂ 组: 术中移植肾血管开放前静滴 ALG 300 mg, 术后第 1 天开始连续 7~12d 静滴 ALG 300 mg/d. 全部病人于术中及术后 2 d 每天各静滴甲强龙(MP)500 mg. 术后第 1 天开始口服硫唑嘌呤(AZA)50 mg/d 术后第 3 天开始口服泼尼松(Pred)30 mg/d. 术后第 3~4 天血肌酐< 300 μmol/L 时, 始服环孢霉素(CsA), 初始剂量为 4.5~5 mg/(kg·d)。以后剂量调整至血药浓度为 400~800 ng/L(FPIA 法)。出院后均采用 Pred+CsA+AZA 预防排斥。

1.3 实验室检查方法

除常规术后每天作血常规、生化、定期检查肝功能、测量 CsA 血药浓度等检查外, 于术前、术后连续 14 d 每天用免疫流式细胞学方法测定病人外周血 CD3⁺ 细胞数。

1.4 观察与追踪方法

术后 2 周内, 观察病人的急性排斥反应, 血常规, 血肌酐, 肝功能及其他并发症。以后以电话访问, 约诊或信访方法定期追踪病人, 观察病人移植肾功能, 肝功能, 排斥反应

及其他并发症, 追踪期为 1 个月~22 个月。追踪截止于 1997 年 10 月。

1.5 急性排斥反应的诊断方法

主要依靠临床资料包括发热, 移植肾区疼痛, 尿量减少, 每天血肌酐升高> 50 μmol/L (排除 CsA 中毒), 体重增加< 0.5 kg/d, 血压升高等及病理检查。

1.6 统计学方法

方差分析法, χ² 检验, 四格表的确切概率法, 统计学意义标准定为 P< 0.05。

2 结 果

术后 2 周内, 3 组病人外周血 CD3⁺ 细胞数如表 2 所示。术后 5 d 内, 3 组病人外周血 CD3⁺ 细胞数平均值比较无统计学差异, 但术后 6 d 后 ALG₁ 组病人外周血 CD3⁺ 细胞数高于 ALG₂ 组 (P< 0.05)。

ATG 组出现急性排斥反应 5 例(25%), 其中 1 次排斥 4 例, 2 次排斥 1 例。ALG₁ 组出现急性排斥反应 13 例(32.50%)。其中 1 次排斥 9 例, 2 次排斥 3 例, 3 次排斥 1 例。ALG₂ 组出现急性排斥反应 6 例(30.00%), 其中 1 次排斥 5 例, 2 次排斥 1 例, 3 组病人急性排斥反应率比较无统计学差异 (P> 0.05, χ² 检验), 3 组病人的并发症如表 3, ALG₂ 组的 CMV 病及一般感染率明显高于 ATG 组及 ALG₁ 组 (P< 0.05)。

表 2 3组病人外周血 CD3⁺平均值的比较Table 2 Analysis of variance of blood CD3⁺ cell count in three groups ($\bar{x} \pm s, \mu\text{L}$)

days after operation	ATG (group) (a)	ALG (group) (b)	ALG ₂ (group) (c)	F	P		
					ab	ac	bc
0	1009.21±3.90	1252.06±3.02	959.03±2.50	3.78	> 0.05	> 0.05	> 0.05
1	69.31±6.86	59.45±7.46	67.18±6.18	3.56	> 0.05	> 0.05	> 0.05
2	91.00±6.08	39.90±6.96	35.79±6.00	4.58	> 0.05	> 0.05	> 0.05
3	93.07±6.71	51.12±7.83	49.13±7.07	4.65	> 0.05	> 0.05	> 0.05
4	105.47±8.14	75.15±8.67	59.87±7.76	4.54	> 0.05	> 0.05	> 0.05
5	137.45±6.43	155.40±10.57	80.53±7.81	4.65	> 0.05	> 0.05	> 0.05
6	288.97±7.02	246.82±9.53	120.41±5.69	7.72	> 0.05	< 0.05	< 0.05
7	355.48±5.76	452.20±8.58	189.72±5.51	8.34	> 0.05	< 0.05	< 0.05
8	412.03±6.91	493.44±8.99	276.38±5.64	6.23	< 0.05	< 0.05	< 0.05
9	476.29±6.39	580.51±7.37	391.68±5.07	4.90	> 0.05	> 0.05	> 0.05
10	520.35±6.26	648.76±5.88	365.69±6.44	5.67	> 0.05	> 0.05	< 0.05
11	531.56±7.11	675.37±6.32	406.54±6.36	5.52	< 0.05	> 0.05	< 0.05
12	454.15±8.95	885.87±5.57	501.43±3.77	6.72	< 0.05	> 0.05	< 0.05
13	634.20±6.73	800.48±5.44	465.83±5.01	6.63	> 0.05	> 0.05	< 0.05
14	565.77±7.09	1219.71±4.18	439.55±5.40	9.84	< 0.05	> 0.05	< 0.05

Analysis of variance

表 3 3组病人的并发症追踪及分析

Table 3 Follow up and analysis of complications in three groups n (%)

complication	ATG (group) n=20 (a)	ATG ₁ (group) n=40 (b)	ATG ₂ (group) n=20 (c)	P ²⁾		
				ab	ac	bc
CMV disease	0(0)	2(5.00)	5(25.00)	0.10731 ¹⁾	0.02361 ¹⁾	0.03551 ¹⁾
General infection	6(30.00)	13(32.50)	17(85.00)	> 0.05 ²⁾	< 0.05 ²⁾	< 0.05 ²⁾
Hepatic function damage	1(5.00)	8(20.00)	2(10.00)	0.2442 ¹⁾	1.0000 ¹⁾	> 0.25 ²⁾
Leukopema	2(10.00)	7(17.50)	5(25.00)	> 0.50 ²⁾	0.4074 ¹⁾	> 0.25 ²⁾
Thrombopenia	7(35.00)	13(32.50)	9(45.00)	> 0.75 ²⁾	> 0.50 ²⁾	> 0.75 ²⁾
Chilly, Fever	1(5.00)	4(10.00)	1(5.00)	1.0731 ¹⁾	—	1.0731 ¹⁾
Low blood pressure	1(5.00)	0	0	—	—	—

1) exact probabilities in 2×2 table, 2) χ^2 test

3 讨论

3.1 病人外周血 CD3⁺ 细胞数变化及其临床意义

尽管急性排斥反应的机制尚未完全明了。但多数学者认为早期急性排斥反应主要是细胞免疫反应,包括迟发型变态反应(DTH),细胞毒性T细胞(Tc)对移植肾的杀伤作用等^[4]。故在理论上,若能在移植肾接触血循环之前,最大程度地杀害病人血循环中的T淋巴细胞,便可预防或推迟

急性排斥反应的发作。已有实验证明ATG和ALG在人体中的作用:包括杀伤血循环中的淋巴细胞,掩饰细胞表面的抗原,并能选择性地杀伤辅助T细胞(Th)、以及诱导抑制性T细胞(Ts)产生^[5]。基于以上机理,多克隆抗体在防治移植器官的急性排斥反应中无疑是良好药物。Kaden等报告了术中移植肾血管开放前静滴大剂量ATG[9 mg/(kg·d)],此时,病人外周血中的CD3⁺细胞数已减少约45%。减少和推迟急性排斥反应发作,明显改善2年移植肾存活率^[6]。在本研究中(如表2所示),3组病人外周血CD3⁺细胞数于术后第1~2天下降至最低水平,且在低水平中维

持至少 4~5 d 第 5~6 d 开始回升。术后第 5 天内 3 组病人外周血 CD3⁺ 细胞数平均值比较无显著差异。这说明术中常规剂量的 ATG, 术后第 3 d 间断使用小剂量 ATG, 与术中, 术后连续数天使用 ALG, 在术中 5 d 内对病人外周血 CD3⁺ 细胞数的抑制效应相似, 这为临床使用多克隆抗体时, 采用术中常规剂量, 术后 2 d 内停用, 第 3 天开始间断小剂量的方法提供理论依据。再者, 术后第 6 天, 3 组病人 CD3⁺ 细胞数出现统计学差异。而我们在临床观察到, 多数的急性排斥反应发生于术后第 6, 8, 10 天。虽然 CD3⁺ 细胞数与急性排斥反应之间的关系仍争议很大, 但本研究结果提醒我们于术后第 5 天应注意病人尿量, 血肌酐等变化, 及时发现及防治排斥反应。

3.2 多克隆抗体的使用而延迟使用 CsA 的临床意义

CsA 已成为预防移植肾急性排斥反应的常规药物。许多临床医生在肾移植术前及术后立刻使用 CsA^[7]。然而, CsA 的肾毒性一直令人担忧, 过早使用 CsA 可能会诱发某些早期移植肾功能衰竭及移植肾功能延迟恢复(DGF)的发生。近年来, 许多学者注意到早期移植肾功能的恢复情况直接影响近期及远期移植肾存活率。这对移植早期无尿或少尿者, 争取尽快恢复移植肾功能尤为重要。其关键在于尽早作出鉴别诊断。移植肾早期无尿或少尿主要原因有急性排斥反应, 急性肾小管坏死(ATN)及急性 CsA 肾中毒。急性肾小管坏死可根据移植肾的总缺血时间作出初步估计。而在移植肾功能未恢复, 尤其移植肾冷缺血时间较长者, 术前, 术中 CsA 会加重其对移植肾损害的危险, 导致少尿或无尿, 使移植早期无尿或少尿的病因鉴别诊断变为复杂而延误治疗。本研究中可见, 术中和术后 3~6 d 内使用多克隆抗体, 病人外周血 CD3⁺ 细胞数于术后 5 d 内维持在很低水平, 而临床上出现急性排斥反应均于术后第 6 天之后。在本研究中病人于术后第 3~4 天血肌酐 < 300 μmol/L 后方使用 CsA, 说明多克隆抗体与 Pred 及 AZA 合用能在术后 3 d 内有效地预防急性排斥反应, 故于术后 3 d 内使用 CsA 似乎无必要。另本组病例中, 无 1 例出现少尿或无尿。有文献报告: 术后即用 CsA 出现早期肾功能丧失率两倍于用 ALG 者^[7], 说明移植早期无尿或少尿可能与过早使用 CsA 有关。因此, 我们认为在术后使用 ATG、ALG 有效抑制外周血 CD3⁺ 细胞, 可延迟使用 CsA 是一种较安全的方法。

3.3 短期小剂量的多克隆抗体预防急性排斥反应疗效的评估

多克隆抗体在人类的同种异体器官移植排斥反应的防治中已应用多年^[8]。它与类固醇激素合用, 能使移植肾存活率及减少排斥率提高 10%~15%^[9]。然而, 如何合理地使用多克隆抗体仍有很大争议, 多数学者于术后使用多克隆抗体 10~14 d。再者, 多克隆抗体所导致的并发症越来越受重视, 尤其是其导致病人的免疫功能低下, 易于感染病

原体, 如细菌, 病毒, 真菌等。由于 CMV 普遍存在于人群, 以致病人使用免疫抑制剂预防排斥反应后, 出现 CMV 感染率较高。Hanto 等报告, 受者感染率为 1.44 次/1 个病人/1 年, CMV 感染率 37%, 其中, 中重度感染占 75%^[3]。我院自 1995 年初开始, 发现肾移植病人 CMV 感染率有快速升高趋势, 且死亡率很高。在 1996 年的 187 例肾移植患者中, 19 例术后发生 CMV 病, 其中 9 例死亡。为此, 我们设计本研究, 在原来使用 Pred+CsA+AZA 基础上, 使用不同剂量多克隆抗体, 分 3 组研究, 结果: 3 组病人的急性排斥反应率无统计学显著性差异。然而, ALG₂ 组的 CMV 病发生率及一般感染率明显高于 ATG 组及 ALG₁ 组 ($P < 0.05$)。其他并发症的发生率, 3 组无统计学显著性差异。因此, 术中常规剂量的 ATG, 术后第 3 天开始间断使用小剂量的 ATG, 或术中及术后连续 3~6d 较短期使用常规剂量 ALG, 既能有效地预防急性排斥反应, 也能明显减少术后感染率, 是预防急性排斥反应的有效、安全且相对价廉的方案。

参 考 文 献

- 1 Cecka J M, Terasali P I. The UNOS scientific renal transplant registry. *Clin Transpl*, 1993, 25(1): 1
- 2 Abouna G M, Kumar M S A, Stephan R *et al*. Induction therapy with antithymocyte globulin reduces the incidence of allograft rejection and improves graft survival in cadaver renal transplantation. *Transplant Proc*, 1993, 25(3): 2241
- 3 Hanto W D, Jendrisak D M, So K S S *et al*. Induction immunosuppression with antilymphocyte globulin or OKT3 in cadaver kidney transplantation. Results of a single institution prospective randomized trial. *Transplantation*, 1994, 7(3): 377
- 4 Mason D. The roles of T cell Subpopulations in allograft rejection. *Transplant Proc*, 1998, 20(2): 239
- 5 Zimmerman B, Swain S L, Dutton R W. Analysis of the anti-thymocyte serum on T lymphocyte subsets. *J Immunol*, 1982, 129(2): 515
- 6 Kaden J, May G, Muller P, *et al*. Intraoperative high-dose anti-thymocyte globulin bolus in addition to triple-drug therapy improves kidney graft survival. *Transplant Proc*, 1995, 27(1): 1060
- 7 Halloran P, Aprile M, Farewell V. Factors influencing early renal function in cadaver kidney transplants. *Transplantation*, 1988, 45(1): 122
- 8 Howard R S, Condie R M, Sutherland D E R *et al*. The use of antilymphoblast globulin in the treatment of renal allograft rejection. *Transplant Proc*, 1981, 13(1): 473
- 9 Cosimi A B. The clinical usefulness of antilymphocyte antibodies. *Transplant Proc*, 1983, 15(1): 583

(1997-12-09 收稿 1998-05-05 修回)