

移植肾 CD20⁺淋巴细胞浸润的临床意义^{*}郭君其¹ 邹毓华¹ 吴晨光¹ 郑智勇¹ 吴卫真¹ 杨顺良¹ 余英豪¹ 谭建明¹

[摘要] 目的:探讨 CD20⁺细胞在移植肾排斥反应中浸润程度与移植肾预后的关系。方法:选取 93 例肾移植后穿刺患者,肾活检组织标本行 CD20 免疫组化染色。并对病理结果行半定量分析,根据 CD20⁺细胞在肾组织内浸润程度,分为阴性组 48 例(N 组,CD20⁺细胞浸润占肾小管间质面积<10%)、中度浸润组 25 例(M 组,CD20⁺细胞浸润占肾小管间质面积≥10%<50%)和重度浸润组 20 例(H 组,CD20⁺细胞浸润占肾小管间质面积≥50%)。分析 CD20⁺细胞浸润的程度与移植肾预后的相关性。随访内容包括患者穿刺活检后的临床资料,随访内容包括患者的肌酐、蛋白尿变化及移植肾的生存状况等指标。结果:三组患者在年龄、性别、组织活检时间以及移植的次数均没有明显差异($P>0.05$);穿刺活检后 12 个月的肌酐 N 组[(276.79±240.78) μmol/L]低于 M 组[(360.16±290.30) μmol/L];M 组低于 H 组[(466.50±330.53) μmol/L], $P<0.05$;CD20⁺浸润组的患者的 4 年生存率明显低于阴性组($P<0.05$);穿刺活检后 12 个月内,N 组穿刺后出现蛋白尿的概率明显低于 M 组和 H 组($P<0.05$)。结论:CD20⁺细胞在肾移植内浸润的程度与移植肾预后有明显相关性。

[关键词] CD20⁺细胞;移植肾;穿刺活检

[中图分类号] R699.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-1420(2012)02-0100-04

Clinical significance of the infiltration of CD20-positive lymphocytes in renal allograft pathology

GUO Junqi ZOU Yuhua WU Chengguang ZHENG Zhiyong WU Weizhen
YANG Shunliang YU Yinghao TAN Jianming

(Department of Urology, Fuzhou General Clinical Medical College of Fujian Medical University, Fuzhou, 350025, China)

Corresponding author: TAN Jianming, E-mail: guojunq2002@yahoo.com.cn

Abstract Objective: To analyze the infiltration of CD20-positive lymphocytes in the reject reaction of renal allograft and the relations with the graft survival. **Method:** We examined 93 biopsy samples of renal allograft patients. CD20 was assayed by immunohistochemistry staining. These cases were divided into three groups according to the degree of CD20 positive cell infiltration with semiquantitative method, Three groups, negative group(<10%, $n=48$), moderate infiltration(≥10%, <50%, $n=25$) and severe group(≥50%, $n=20$) in all 93 patients, to analyze the relations between the infiltration of CD20-positive lymphocytes and graft survival. All cases were collected the information of treatment, serum creatinine (SCr), albuminuria and graft survival. **Result:** Three groups have no difference with age, gender, biopsy time and times of transplantation($P>0.05$). In the twelfth month of the following-up, the average SCr of severe group(466.50±330.53 μmol/L) was higher than that moderate group[(360.16±290.30) μmol/L] $P<0.05$; the moderate group was higher than that of negative group[(276.79±240.78) μmol/L] $P<0.05$. The graft survival ratio of severe group was lower than that of moderate and negative groups($P<0.05$) in 4 years. The ratio of the biopsy patients with albuminuria of severe group was higher than that of moderate and negative group($P<0.05$). **Conclusion:** The degree of CD20 positive cell infiltration in the renal allograft was an important factor for evaluating allograft prognosis.

Key words CD20-positive lymphocytes; kidney transplantation; aspiration biopsy

肾移植技术日益成熟,提高移植肾的存活尤为重要,移植肾穿刺活检也被广泛接受,通过移植肾穿刺活检可以明确患者移植肾的具体情况,对指导临床治疗和判断预后具有重大意义^[1]。在临床中,移植后 B 淋巴细胞在排斥反应中的重要作用被普遍认同。研究表明有 CD20⁺淋巴细胞的急性排斥反应中,移植物有较低的生存率和相对较差的预后^[2-4]。本研究是通过对移植肾穿刺活检的标本行

CD20 染色,观察其浸润程度与移植肾预后的关系,以进一步证实其作为预后判断价值和在移植肾排斥中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取本院 2003 年 2 月~2008 年 12 月有完整随访资料的移植肾穿刺活检病例共 93 例,其中男 67 例,女 26 例,年龄 21~70 岁。移植的次数均为 1 次。

1.2 分组情况

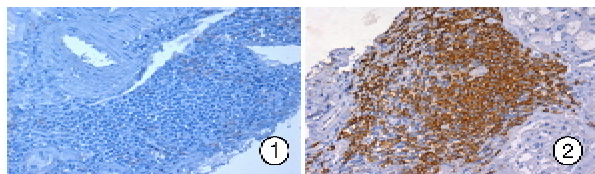
移植肾活检标本,经 CD20 免疫组化染色。根据 CD20⁺细胞在肾组织内浸润程度,分为阴性组

^{*}基金项目:福建省科技创新平台建设计划(No: 2008J1006),解放军南京军区医学科技创新项目(No: 09MA093)

¹福建医科大学福总临床医学院泌尿外科(福州,350025)
通信作者:谭建明, E-mail: guojunq2002@yahoo.com.cn

48 例(N 组,CD20⁺细胞浸润占肾小管间质面积<10%)、中度浸润组 25 例(M 组,CD20⁺细胞浸润占肾小管间质面积≥10%<50%)和重度浸润组 20 例(H 组,CD20⁺细胞浸润占肾小管间质面积≥50%)。

CD20 免疫组化染色后的病理图片见图 1。



1;(400×)阴性组(N 组),CD20⁺细胞浸润<10%;2;(400×)重度浸润组(H 组),CD20⁺细胞浸润≥50%

图 1 CD20 免疫组化染色后病理图

1.3 观察指标

患者穿刺活检后以肌酐和蛋白尿作为移植肾预后的主要指标。①比较三组患者在穿刺时、穿刺后 6 个月和穿刺后 12 个月的肌酐变化情况;②比较三组患者在穿刺后 12 个月内出现蛋白尿的情况;③比较三组患者移植肾的 4 年生存率情况。

1.4 统计学分析

应用 SPSS13.0 统计软件进行分析,患者所有计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。三组之间率的差别用 χ^2 检验进行分析(其中四格表理论频数小于 5 用 Fisher 精确检验)。两组之间的一致性用方差分析。生存分析法用 log-rank 检验和 Kaplan-Meier 生存分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者的基本情况

所有患者按照 CD20⁺细胞的浸润程度分为阴性组、中度浸润组和重度浸润组三组。三组患者在年龄、性别、组织活检时间以及移植的次数均差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 患者的基本病理诊断结果

93 例患者的病理诊断结果情况见表 1。

2.3 三组患者穿刺后的肌酐变化情况

统计每个患者在穿刺时、穿刺后 6 个月和穿刺后 1 年的肌酐水平,三组患者的肌酐在移植肾穿刺活检时和穿刺后 6 个月时并没有明显差异。而在穿刺后 12 个月时差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.4 三组患者穿刺活检后 12 个月内出现蛋白尿的情况

统计比较三组患者穿刺活检后 12 个月内出现蛋白尿的例数比较:N 组与 H 组比较 $\chi^2 = 16.371$, $P = 0.000 < 0.0125$;N 组与 M 组比较 $\chi^2 = 11.020$, $P = 0.001 < 0.0125$;结果表明 CD20⁺细胞

浸润阴性组和中、重度浸润的患者,其穿刺活检后 12 个月内出现蛋白尿例数的差异有统计学意义。详见表 3。

2.5 三组患者生存率比较分析

应用 Kaplan-Meier 生存分析,Log rank 检验 N 组和 M 组比较 $\chi^2 = 5.961$, $P = 0.015 < 0.05$ 。N 组和 H 组比较 $\chi^2 = 10.581$, $P = 0.001 < 0.05$ 。Breslow 检验 N 组和 M 组比较的 $\chi^2 = 5.138$, $P = 0.023 < 0.05$ 。N 组和 H 组比较 $\chi^2 = 9.560$, $P = 0.002 < 0.05$ 。综上所述:CD20⁺浸润组的 4 年生存率明显低于阴性组(图 2)。

表 1 患者的病理诊断情况

CD20 浸润	N 组	M 组	H 组	总例数
慢性移植肾肾病	20	17	11	48
慢性排斥	13	1	3	17
急性排斥	3	4	3	10
免疫抑制剂中毒	7	1	1	9
肾病复发	3	1	1	5
其他	2	1	1	4

表 2 穿刺前后的肌酐变化情况

CD20 浸润	N 组	M 组	H 组	P 值
穿刺时	342.65±230.50	257.72±159.09	360.50±256.47	0.21
穿刺后 6 个月	332.29±244.63	276.96±177.98	366.75±286.52	0.43
穿刺后 12 个月	276.79±240.78	360.16±290.30	466.50±330.53	0.03

表 3 穿刺活检后 12 个月内出现蛋白尿情况

CD20 浸润	N 组	M 组	H 组
蛋白尿阴性	33	7	3
蛋白尿阳性	15	18	17

$\alpha = 0.05$, N 组 vs M 组或 H 组, $P < 0.0125$, 差异有统计学意义

3 讨论

影响移植肾排斥的因素很多,先前的研究^[5]发现移植肾组织内细胞间黏附分子 1 的检测对于肾移植后急性排斥反应的诊断具有参考价值,而 CD20⁺淋巴细胞在移植肾急性排斥中的作用已经有较深入的认识。先前的研究表明有 CD20⁺淋巴细胞的急性排斥反应中,移植肾有较低的生存率^[2-4]。而我们的研究不仅证实了先前的这些发现,而且证实了在所有存在 CD20⁺的排斥反应中(包括急性排斥和慢性排斥),移植肾的生存率都较低。更进一步证明了 CD20⁺细胞的浸润程度与移植肾生存率之间的关系,即 CD20⁺细胞浸润的越严重,移植肾的生存率越低。我们发现,CD20⁺细

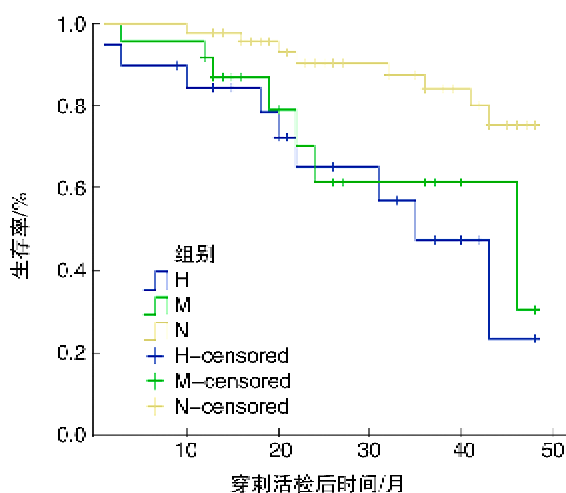


图 2 生存率曲线

胞中重度浸润的移植肾生存率明显下降。而且,这部分患者在穿刺活检 12 个月时候的肾功能明显比阴性组的要差。同时我们研究还发现有 CD20⁺ 浸润的患者出现蛋白尿的概率要高于阴性组。表明 CD20⁺ 细胞是影响移植肾预后的重要因素之一。

影响移植肾预后的相关因素很多^[6],先前的一些研究报道认为 CD20 并不是移植肾预后的敏感指标^[7-9]。Sarwal 等^[7]运用基因芯片技术证明了 CD20⁺ 细胞在移植肾预后中的重要作用。Tsai 通过综合分析,认为自移植肾穿刺活检始,移植肾的功能和预后生存率与 CD20 有明显的关系。并认为 CD20⁺ 细胞浸润是影响移植肾的功能和生存率的真正的原因^[2]。

因为我们都是在穿刺活检以后开始正式随访的,移植肾的功能等预后结果可能会受到从移植到穿刺这段时间长短的影响。所以我们对三组之间移植距穿刺时间的进行相关分析,分析结果显示三组之间差异无统计学意义($P>0.05$)。而影响移植肾预后的重要指标就是 CD20⁺ 细胞浸润。在穿刺时出先 CD20⁺ 细胞浸润的患者,其移植肾丢失功能的可能性就大,不管用什么药物治疗,这部分患者还是会在穿刺后早期的几个月里出现移植肾功能丢失^[10]。而我们的研究结果也证实了这点,从生存率曲线中可以很清楚的看出。而且 CD20⁺ 细胞浸润的越严重,其后期的肾损害也越重^[11-12]。我们的研究发现在 CD20⁺ 细胞浸润组中,包括中度和重度浸润组,其穿刺活检后移植肾的预后相对较差。相比之下,阴性组的明显较好,特别是穿刺活检后 12 个月时与浸润组相比肌酐和蛋白尿的差异明显具有统计学意义($P<0.05$)。而中度浸润组和重度浸润组间差异无统计学意义($P>0.05$),说明移植肾的损害程度与 CD20⁺ 细胞浸润有关,而受浸润的程度影响不是很明显。另外对移植肾

功能的损害上还表现在蛋白尿方面,穿刺活检后出现蛋白尿情况中可以看出,穿刺活检提示有 CD20⁺ 细胞浸润的患者,其穿刺后出现蛋白尿的概率就明显大于阴性组。说明 CD20⁺ 浸润对移植肾后蛋白尿的影响也有一定的意义。这一点更进一步说明了 CD20⁺ 细胞浸润是影响移植肾预后的重要因素之一。

目前,抗 CD20 单克隆抗体在肾移植中应用的机制尚未完全明确,近年来,国外有移植中心开始使用抗 CD20 单克隆抗体进行免疫抑制治疗,并取得良好的效果^[13]。同时已有移植中心在肾移植中使用抗 CD20 单克隆抗体进行免疫抑制治疗^[14-15],效果肯定。抗 CD20 单克隆抗体为肾移植的免疫治疗又提供了一种新的选择,尤其对抗群体抗体高的患者或抗体介导的体液免疫排斥反应更具有重要意义。相信随着研究的深入,抗 CD20 单克隆抗体在移植领域将有着良好的前景。

综上所述,CD20⁺ 细胞在肾移植内浸润的程度与移植肾预后有明显相关性,CD20⁺ 细胞重度浸润的患者,其移植肾的预后差。伴 CD20⁺ 淋巴细胞浸润的患者,其移植肾的 4 年生存率相对较低。

参考文献

- [1] 郭君其,叶永峰,郑智勇,等. 移植肾穿刺活检 83 例临床病理分析[J]. 诊断病理学杂志,2007,6:444-446.
- [2] TSAI E W, RIANTHAVORN P, GIERTSON D W, et al. CD20⁺ lymphocytes in renal allografts are associated with poor graft survival in pediatric patients [J]. Transplantation, 2006, 82:1769-1773.
- [3] KAYLER L K, LAKKIS F G, MORGAN C, et al. Acute cellular rejection with CD20-positive lymphoid clusters in kidney transplant patients following lymphocyte depletion [J]. Am J Transplant, 2007, 7:949-954.
- [4] 文吉秋,黎磊石,陈劲松,等. CD20 阳性细胞和 HLA-DR 表达对移植肾急性排斥反应预后判断的价值[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志,2007,5:435-440.
- [5] 郭君其,黄一亮,吴卫真,等. 细胞间黏附分子 1 与移植肾急性排斥反应[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 5:862-864.
- [6] 柳金顺,谭建明,吴卫真,等. 补体裂解片段 C4d 在移植肾急性排斥反应中的临床意义[J]. 中华器官移植杂志, 2006, 27:221-224.
- [7] SARWAL M, CHUA M S, KAMBHAM N, et al. Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling [J]. N Engl J Med, 2003, 349:125-138.
- [8] HIPPEN B E, DEMATTOS A, COOK W J, et al. Association of CD20⁺ infiltrates with poorer clinical outcomes in acute cellular rejection of renal allografts [J]. Am J Transplant, 2005, 5:2248-2252.

疗的一种有效选择。但此病发病率较低,同时需要更多的、大样本、多中心临床进一步研究。

参考文献

- [1] PITTS W R Jr, MUECKE E C. Horseshoe kidneys; a 40-year experience[J]. J Urol, 1975, 113: 743—746.
- [2] BAUER S. Anomalies of the upper urinary tract[M]. In: WALSH P C, RETIC A B, VAUGHAN E D, et al, ed. Campbell's Urology. 8th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2002.
- [3] WEIZER A Z, SILVERSTEIN A D, AUGER B K, et al. Determining the incidence of horseshoe kidney from radiographic data at a single institution[J]. J Urol, 2003, 170: 1722—1726.
- [4] HOHENFELLNER M, SCHULTZ-LAMPEL D, LAMPEL A, et al. Tumor in the horseshoe kidney: clinical implications and review of embryogenesis[J]. J Urol, 1992, 147: 1098—1102.
- [5] NG L G, YIP S K, WONG M Y, et al. Clinics in diagnostic imaging (67). Hydronephrotic horseshoe kidneys with multiple calculi[J]. Singapore Med J, 2001, 42: 540—544.
- [6] LINGEMAN J E, WOODS J, TOTH P D, et al. The role of lithotripsy and its side effects [J]. J Urol, 1989, 141(3Pt. 2): 793—797.
- [7] LOCKE D R, NEWMAN R C, STEINBOCK G S, et al. Extracorporeal shock-wave lithotripsy in horseshoe kidneys[J]. Urology, 1990, 35: 407—411.
- [8] VANDEURSEN H, BAERT L. Electromagnetic extracorporeal shock wave lithotripsy for calculi in horseshoe kidneys[J]. J Urol, 1992, 148(3Pt. 2): 1120—1122.
- [9] KUPALI B, ISEN K, BIRI H, et al. Extracorporeal shock wave lithotripsy in anomalous kidneys[J]. J Endourol, 1999, 13: 349—352.
- [10] TORRECILLA ORTIZ C. Treatment of lithiasis in horseshoe kidney with extracorporeal shock-wave lithotripsy[J]. Actas Urol Esp, 2001, 25: 50—54.
- [11] PEARLE M S. Renal urolithiasis; surgical therapy for special circumstances[R]. Part II. AUA Update Series. Lesson 40, 2001, 2001.
- [12] CUSSENOT O. Anatomical bases of percutaneous surgery for calculi in horseshoe kidney[J]. Surg Radiol Anat, 1992, 14: 209—213.
- [13] LAMPEL A, HOHENFELLNER M, SCHULTZ-LAMPEL D, et al. Urolithiasis in horseshoe kidneys: therapeutic management[J]. Urology, 1996, 47: 182—186.
- [14] RAJ G V, AUGER B K, WEIZER A Z, et al. Percutaneous management of calculi within horseshoe kidneys [J]. J Urol, 2003, 170: 48—51.
- [15] MILLER N L, MATLAGA B R, HANDA S E, et al. The presence of horseshoe kidney does not affect the outcome of percutaneous nephrolithotomy[J]. J Endourol, 2008, 22: 1219—1225.
- [16] SYMONS S J, RAMACHANDRAN A, KURIEN A, et al. Urolithiasis in the horseshoe kidney: a single-centre experience [J]. BJU Int, 2008, 102: 1676—1680.
- [17] WEIZER A Z, SPRINGHART W P, EKERUO W O, et al. Ureteroscopic management of renal calculi in anomalous kidneys[J]. Urology, 2005, 65: 265—269.
- [18] BENOIT M, SAEED A Q, AMINE L, et al. Flexible ureterorenoscopy with holmium laser in horseshoe kidneys[J]. Urology, 2010, 76: 1334—1338.
- [19] 孙颖浩, 高旭, 高小峰, 等. 输尿管软镜下钬激光碎石术治疗肾盏结石[J]. 临床泌尿外科杂志, 2004, 19: 139—141.

(收稿日期: 2011-09-22)

(上接第102页)

- [9] KERJASCHKI D, REGELE H M, MOOSBERGER I, et al. Lymphatic neoangiogenesis in human kidney transplants is associated with immunologically active lymphocytic infiltrates[J]. J Am Soc Nephrol, 2004, 15: 603—612.
- [10] MEIER-KRIESCHE H U, OJO AO, HANSON J A, et al. Increased impact of acute rejection on chronic allograft failure in recent era[J]. Transplantation, 2000, 70: 1098—1100.
- [11] RACUSEN L C, COLVIN R B, 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: 708—714.
- [12] BOHMIG G A, EXNER M, HABICHT A, et al. Capillary CA deposition in kidney allograft: A specific marker of alloantibody-dependent injury[J]. J Am Soc Nephrol, 2002, 13: 1091—1099.
- [13] PESCOVITZ M D. B cells: a rational target in alloantibody-mediated solid organ transplantation rejection [J]. Clin Transplant, 2006, 20: 48—54.
- [14] PESCOVITZ M D. Rituximab, an Anti-CD20 monoclonal antibody: history and mechanism of action [J]. Am J Transplant, 2006, 6: 859—866.
- [15] GOURISHANKAR S, TURNER P, HALLORAN P. New developments in immunosuppressive therapy in renal transplantation [J]. Expert Opin Biol Ther, 2002, 2: 483—501.

(收稿日期: 2011-09-15)