

肝移植术后过客淋巴细胞综合征的发病机制和研究进展

明英姿 庄权 成柯 赵于军 余兴国 牛英 彭博 刘洪

【摘要】 过客淋巴细胞综合征 (PLS) 是造血干细胞移植及实体器官移植术后常见的并发症, 也是造成移植术后溶血的主要原因。PLS 是由于供者 B 细胞在移植后被输注到受者体内, 并被激活、增殖, 从而产生抗体, 导致溶血的发生。其主要发生在 ABO 或 Rh 血型不相合的移植中, 有时也可由某些不规则抗红细胞抗体所致。PLS 可以通过血清学方法、嵌合体检测及流式细胞技术进行诊断。目前尚无可靠的方法治疗 PLS, 但纠正贫血、去除抗体、抑制 B 细胞增殖及营养支持是治疗 PLS 的有效手段。

【关键词】 过客淋巴细胞综合征; 肝移植; 抗红细胞抗体; 溶血反应; ABO 血型; Rh 血型

【中图分类号】 R617, R457.7 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1674-7445 (2017) 04-0014-04

过客淋巴细胞综合征 (passenger lymphocyte syndrome, PLS) 是指供体中残留的 B 细胞 (也称为过客淋巴细胞) 针对宿主抗原产生免疫性抗体而引起的一系列症状, 尤其以溶血为主^[1]。在 PLS 中, 供者记忆性 B 细胞产生了抗受者红细胞抗原的抗体, 从而发生抗原抗体反应, 在补体的作用下, 导致红细胞裂解, 即发生溶血^[2]。这种现象在 ABO 或 Rh 血型不相合的移植中最为常见; 有时, 溶血可见于一些罕见血型系统不相合, 如 Kidd、MNSs、Kell 以及 Lewis 血型系统^[3-5]。在实体器官移植中, 发生溶血的风险往往与移植体所携带的淋巴组织的多少相关。此外, 其发病还与供者移植前红细胞同种凝集素水平以及受者移植后抗体滴度的迅速增长有关。过客淋巴细胞导致的溶血最常见于心肺移植 (大约 70%), 其次是肝移植 (29%) 以及肾移植 (9%)^[6]。

1 PLS 的发病机制

ABO 血型不相合移植可以分为 3 类: 主要错配、次要错配以及双向错配。主要错配 (如 A → O): 即不符合输血原则的错配, 供者抗 A 或 B 抗体直接攻击受者红细胞表面的 ABO 抗原, 这类错配容易造成急性溶血反应的发生; 次要错配 (如 O → A): 即符合输血原则的错配, 但这类错配容易发生移植体抗宿主病 (GVHD), 从而造成延迟性溶血反应的发生; 第 3 种是双向错配 (如 A → B): 其综合了主要错配与次要错配的特点, 同时可能发生宿主抗

移植体病 (host-versus-graft disease, HVGD) 和 GVHD^[7]。因此, PLS 有时也被认为是一种 GVHD^[8]。

在器官移植后, 具有免疫活性的记忆性供者 B 细胞在再次免疫应答时产生抗红细胞抗体, 发生抗原抗体反应, 并由补体介导导致大量的红细胞被破坏, 最终发生溶血。发生移植后溶血的原因和机制有很多, 比如自身抗体介导的自身免疫学溶血, 造血干细胞输注时直接输入了血浆, 随免疫球蛋白制剂一同输入了抗体, 感染, 药物作用以及 PLS^[9]。PLS 所致的溶血在血型不相合的移植中最为常见。器官移植后免疫抑制剂的应用, 使得 B 细胞在特定的环境下迅速增殖, 从而产生抗体^[10]。在肝移植中, 供体肝组织中的 B 细胞不会因为灌洗而减少, 其原因目前认为是肝脏最终的淋巴细胞功能相关抗原 (lymphocyte function associated antigen, LFA) -1 的功能很强, 该分子又可以与细胞间黏附分子 (ICAM) -1 发生联系而使其表达增强, 最终处理后的供者肝脏残存淋巴细胞总数仍在 $5 \times 10^9 \sim 6 \times 10^9$ 个左右, 几乎达到整个外周血中淋巴细胞总数的一半。肝移植再灌注后, 最初的免疫反应是供者淋巴细胞释放入外周血, 而淋巴细胞则向移植体聚集^[11]。肝移植术后供者的大量淋巴细胞会从血液循环中进入组织成为记忆性淋巴细胞, 可在外周血、淋巴结及皮肤中存在^[10]。PLS 所产生的抗体一般在移植术后 5 ~ 17 d 出现, 一般在术后 3 个月即无法被检测到, 其引起的溶血反应一般较轻, 且较容易治疗, 很少发生严重、甚至死亡的情况^[12]。但在

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2017.04.014

基金项目: 吴阶平医学基金会临床科研专项资助基金 (320.6750.15070); 湖南省自然科学基金平衡项目 (2016JJ4105)

作者单位: 410013 长沙, 中南大学湘雅三医院移植中心

通讯作者: 刘洪, Email: hong804@sohu.com

骨髓或造血干细胞移植过程中, 由于术前受体处于较弱或无免疫力状态, PLS 的发生率高, 且溶血反应程度较为严重^[13]。

2 肝移植术后发生 PLS

肝移植术后 PLS 的发生率约为 30%。除了 ABO 血型不相容外, 几乎 68% ~ 100% 的 Rh 不相容的肝移植案例可以检测到抗 Rh 血型抗体, 但只有一半会发生溶血反应^[14-15]。此外, 也有个案报道发现除 ABO 和 Rh 血型系统外存在其他罕见血型抗体介导的肝移植后溶血反应。表 1 总结了肝移植术后 PLS 产生的不规则抗体介导溶血反应的案例^[5,16-22]。PLS 导致的溶血反应一般在术后 1 ~ 3 周发病, 往往可以自愈, 并且在术后 3 个月后就无法查到抗体了。

在一项来自西班牙 La Fe 医院的研究中, 1 217 例肝移植术后患者中共有 12 例患者在术后出现 PLS, 其中 10 例 PLS 患者来自 ABO 血型不相容的移植, 2 例 PLS 患者来自 Rh 血型不相容的移植, 所有 PLS 患者都发生了溶血反应^[16]。Monfort 等^[5]报道了 1 例在肝移植术后 2 周因 PLS 导致溶血性贫血的案例, 供者 (O+) 与受者 (A+) 在术前都没有检测到抗红细胞抗体, 但在术后 10 d, 患者外周血中检测到抗 A 抗体, 与此同时, 5 种不规则抗体也被检测到 (抗 D、抗 C、抗 E、抗 K 和抗 Lea 抗体), 这些抗体均是抗供者红细胞抗原的抗体。Luzo 等^[3]对 1997 年至 2008 年 10 年间 302 例肝移植患者进行研究, 通过间接抗球蛋白实验 (indirect antiglobulin testing, IAT) 发现有 70 例患者在术后存在抗红细胞抗体, 其中抗 Rh 血型抗体最为常见, 而这其中又以抗 E 抗体最多 (42%), 同时被检测到的还有抗 c (10.8%)、抗 D (6.7%)、抗 C (6.7%)、抗 C^w (6.7%)、抗 Jk^a (5.6%)、抗 M (5.6%)、抗 K (4%)、抗 e (2.7%), 还有抗 Fy^a、抗 Fy^b、抗 Lu^a、抗 Di^a、抗 P₁ 以及抗 Le^a 各 1 例。开罗大学的一项研究表明, 在移植术后 15 d, 11 例肝移植患者中有 2 例, 以及 10 例肾移植患者中有 2 例发生免疫性溶血性贫血, 且抗 B 抗体及抗 D 抗体被检测到。通过微嵌合体检测及直接抗球蛋白实验 (direct antiglobulin

testing, DAT), PLS 被认为是导致肝、肾移植术后发生溶血反应的主要原因^[4]。

3 PLS 的诊断方法

3.1 血清学方法

过客淋巴细胞产生的抗红细胞抗体一般在移植术后 2 周内较易被检测到, 此时, DAT 和 IAT 实验通常是弱阳性或阳性。血清抗体一般以 IgG 为主, 有时也会出现 IgM。IgG 一般提示抗体是外源性的^[23]。过客淋巴细胞产生的抗体出现后很快消失, 肝移植一般在术后 3 周左右容易被检测到, 肾移植一般在术后 5 周会出现, 但同时应该排除自身抗体的干扰^[24]。抗体筛选一般经盐水介质、卡式抗人球蛋白介质, 为进一步排除是否有同种抗体, 需进行抗体鉴定, 其结果将显示盐水、抗人球介质中患者血清与谱细胞是否有反应, 如果只有自身细胞凝集, 便可以排除患者血清中存在 ABO 以外的其他不规则抗体。此外, 放散试验可以进一步确定患者体内是否存在除 ABO 以外的不规则抗体^[25]。

3.2 嵌合体检测

嵌合体检测技术对于造血干细胞或实体器官移植术后 GVHD 或 PLS 的诊断具有一定的价值。目前嵌合体检测主要的方法包括血清学或聚合酶链反应 (PCR) 的方法检测人类白细胞抗原 (HLA) 分型^[26], 利用短串联重复 (short tandem repeat, STR) 方法检测基因多态性^[27]、单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP)、可变量目串联重复序列 (variable number of tandem repeat, VNTR)^[28]、Y 染色体性别决定区 (sex-determining region of Y-chromosome, SRY)^[29], 及组织原位荧光杂交法^[21]。目前还有一种较为新的方法——基因插入缺失多态性 (insertion/deletion polymorphism, InDels), 即采集供体外周血、受者术前及术后的外周血或组织, 提取 DNA, 然后筛选 15 个 InDels 位点的 30 个标记, 然后通过定量 PCR 的方法找到所选位点上供者 DNA 在受者术后 DNA 所占的比例, 这种方法被称为“微嵌合体”, 其外周血中嵌合率仅为

表 1 肝移植术后 PLS 产生的不规则抗红细胞抗体案例总结

Table 1 The summary of irregular anti-red blood cell antibodies produced by PLS after liver transplantation

研究作者	年份	国别	受者年龄 (岁)	性别	供者血型	受者血型	抗红细胞抗体
Hyma BA, et al ^[18]	1988	美国	36	男	A+	O+	抗 Jk ^a 、抗 c、抗 S 抗体
Seltsam A, et al ^[19]	2001	德国	62	女	O+	O+	抗 K、抗 Fy ^a 抗体
Hareuveni M, et al ^[20]	2002	以色列	43	男	O+	O+	抗 Jk ^a 抗体
Alexander SI, et al ^[21]	2008	澳大利亚	9	女	O-	O+	抗 D 抗体
Makuria AT, et al ^[17]	2009	美国	44	男	A+	A+	抗 M 抗体
Koepsell SA, et al ^[22]	2013	美国	儿童	未提及	无	无	抗 Kp ^b 抗体
Monfort M, et al ^[5]	2015	比利时	58	男	O+	A+	抗 D、抗 C、抗 E、抗 K、 抗 Le ^a 抗体
Romero S, et al ^[16]	2015	西班牙	41	女	O-	O+	抗 D 抗体
Romero S, et al ^[16]	2015	西班牙	49	男	A-	A+	抗 D 抗体

0.010% ~ 0.001% 时, 也可以被检测到^[30-33]。

3.3 流式细胞术

流式细胞术也可用来辅助诊断 PLS。因为过客淋巴细胞大多属于记忆性 B 细胞, 也有部分 T 细胞, 且 B 细胞产生的抗体才是导致溶血的主要原因。因此, 利用流式细胞术检测或分选 B 细胞、T 细胞及抗体是诊断 PLS 的有效手段。在 Alexander 等^[21] 报道的 1 例 Rh 血型不相合肝移植病例中, 利用流式细胞术将受者的骨髓细胞及外周血细胞进行检测, 对 B 细胞、T 细胞、自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞及 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 进行了分析及追踪。

4 PLS 的治疗与预防

目前还没有统一且可靠的方法来预测和治疗 PLS, 对于 PLS 的治疗也只有个案或小规模系列病例报道, 但对于 PLS 的治疗目前公认的原则是纠正贫血、去除抗体、减少 B 细胞增殖和营养支持。

对于大多数 PLS 的患者来说, 可以输注供体 ABO 同型的红细胞, 大部分可以缓解症状。但对于较为严重的溶血反应, 可以进行洗涤红细胞和冰冻血浆输注, 并对洗涤红细胞进行辐照处理, 可以预防输血相关的 GVHD 发生, 并且新鲜冰冻血浆也应该进行病毒灭活, 尽可能为患者提供输血保护, 可以降低输血不良反应, 并尽可能减少新的抗体输入。王文婷等^[25] 近期报道的一篇关于过客淋巴细胞引起 ABO 非同型肝移植术后发生溶血的文章中, 提出输血的策略为所有输注的血液成分均进行辐照及病毒灭活。在患者术后 11 d 出现血红蛋白进行性下降后, 将 4 单位 O 型辐照洗涤红细胞输注给患者后, 贫血症状有所缓解, 再次输入 1 次辐照洗涤红细胞后, 患者贫血症状大幅度改善。此外, 适当使用促红细胞生成素 (erythropoietin, EPO) 对于提高患者的血红蛋白也有一定帮助^[34]。有时脾脏切除可以减少红细胞的破坏, 延缓红细胞破坏的进程, 对于溶血有一定的治疗作用^[35]。

去除抗体的方法包括免疫吸附、血浆置换以及应用免疫球蛋白中和抗体^[35]。根据 PLS 的发病机制, 控制 B 细胞的增殖和激活非常必要, 目前较为公认的方法是使用抗 CD20 单克隆抗体 (利妥昔单抗), 对于 PLS 所致的严重的溶血反应有较好的疗效^[36], 还有报道称小剂量的阿仑单抗 (campath-1H) 和巴利昔单抗也有一定的作用^[37]。大剂量的肾上腺皮质激素是治疗溶血的一线药物, 建议使用泼尼松每日 0.5 ~ 1.0 mg/kg。此外, 某些免疫抑制剂的转换, 如他克莫司转换为环孢素也被推荐^[38]。最后, 营养支持非常关键, 大部分患者经过反复的贫血, 营养状态非常差, 很容易感染, 从而最终造成脏器衰竭, 并有可能死亡, 所以加强营养, 提高免疫力也是需要被重视的。

5 总 结

由于供体的短缺, 临床不时会进行血型不相合的移植。PLS 是造血干细胞及实体器官移植后常见并发症。在肝移

植中, PLS 发生率可达 30% 左右。PLS 的发病机制为供者 B 细胞在移植后被输注到受者体内, 并被激活、增殖, 从而产生抗体, 导致溶血。PLS 可以通过血清学方法、嵌合体检测及流式细胞技术进行检测。目前尚无可靠的方法治疗 PLS, 但纠正贫血、去除抗体、减少 B 细胞增殖及营养支持是治疗 PLS 的有效手段。

参考文献:

- [1] Sengupta P, Biswas S, Chowdhury S, et al. Passenger lymphocyte syndrome in a renal transplant recipient[J]. J Assoc Physicians India, 2015, 63(12): 86-88.
- [2] Nadarajah L, Ashman N, Thuraisingham R, et al. Literature review of passenger lymphocyte syndrome following renal transplantation and two case reports[J]. Am J Transplant, 2013, 13(6): 1594-1600. DOI: 10.1111/ajt.12219.
- [3] Luzo AC, Pereira FB, de Oliveira RC, et al. Red blood cell antigen alloimmunization in liver transplant recipients[J]. Transplant Proc, 2010, 42(2): 494-495. DOI: 10.1016/j.transproceed.2010.01.010.
- [4] ElAnsary M, Hanna MO, Saadi G, et al. Passenger lymphocyte syndrome in ABO and Rhesus D minor mismatched liver and kidney transplantation: a prospective analysis[J]. Hum Immunol, 2015, 76(6): 447-452. DOI: 10.1016/j.humimm.2015.03.006.
- [5] Monfort M, Honoré P, Gothot A, et al. Simultaneous passenger lymphocyte syndrome and multiple alloimmunization against donor's blood group antigens after liver transplantation[J]. Vox Sang, 2015, 109(1): 86-90. DOI: 10.1111/vox.12253.
- [6] Ramsey G. Red cell antibodies arising from solid organ transplants[J]. Transfusion, 1991, 31(1): 76-86.
- [7] Audet M, Panaro F, Piardi T, et al. Passenger lymphocyte syndrome and liver transplantation[J]. Clin Dev Immunol, 2008: 715769. DOI: 10.1155/2008/715769.
- [8] Kato T, Yazawa K, Madono K, et al. Acute graft-versus-host-disease in kidney transplantation: case report and review of literature[J]. Transplant Proc, 2009, 41(9): 3949-3952. DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.05.030.
- [9] Sokol RJ, Stamps R, Booker DJ, et al. Posttransplant immune-mediated hemolysis[J]. Transfusion, 2002, 42(2): 198-204.
- [10] Jacobs LB, Shirey RS, Ness PM. Hemolysis due to the simultaneous occurrence of passenger lymphocyte syndrome and a delayed hemolytic transfusion reaction in a liver transplant patient[J]. Arch Pathol Lab Med, 1996, 120(7): 684-686.
- [11] Heerwagen C, Schuster M, Bornscheurer A, et al. Rapid exchange of large numbers of donor- and host leukocytes after human liver transplantation[J]. Transpl Int, 2001, 14(4): 240-247.
- [12] Au WY, Lo CM, Fan ST, et al. Life-threatening ABO-mediated hemolysis after cadaveric orthotopic liver transplantation[J]. Transplantation, 2002, 74(2): 285-286.
- [13] Hoegler W, Nachbaur D, Kropshofer G, et al. Abrupt onset of severe passenger lymphocyte syndrome after HLA-mismatched unrelated bone marrow transplantation in a seven-year-old boy[J]. Med Pediatr Oncol, 2002, 38(2): 143-144.
- [14] Shortt J, Westall GP, Roxby D, et al. A 'dangerous' group O donor: severe hemolysis in all recipients of organs from a donor with multiple red cell alloantibodies[J]. Am J Transplant, 2008, 8(3): 711-714. DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.02113.x.
- [15] Shariatmadar S, Pyrsopoulos NT, Vincek V, et al. Alloimmunization to red cell antigens in liver and multivisceral transplant patients[J].

- Transplantation, 2007, 84(4): 527-531.
- [16] Romero S, Selves P, Lancharro A, et al. Passenger lymphocyte syndrome in liver transplant recipients: a description of 12 cases[J]. *Blood Transfus*, 2015, 13(3): 423-428. DOI: 10.2450/2015.0148-14.
- [17] Makuria AT, Langeberg A, Fishbein TM, et al. Nonhemolytic passenger lymphocyte syndrome: donor-derived anti-M in an M+ recipient of a multiorgan transplant[J]. *Immunohematology*, 2009, 25(1): 20-23.
- [18] Hyma BA, Moore SB, Grande JP, et al. Delayed immune hemolysis in a patient receiving cyclosporine after orthotopic liver transplantation[J]. *Transfusion*, 1988, 28(3):276-279.
- [19] Seltsam A, Hell A, Heymann G, et al. Donor-derived alloantibodies and passenger lymphocyte syndrome in two of four patients who received different organs from the same donor[J]. *Transfusion*, 2001, 41(3): 365-370.
- [20] Hareuveni M, Merchav H, Austerlitz N, et al. Donor anti-Jk(a) causing hemolysis in a liver transplant recipient[J]. *Transfusion*, 2002, 42(3): 363-367.
- [21] Alexander SI, Smith N, Hu M, et al. Chimerism and tolerance in a recipient of a deceased-donor liver transplant[J]. *N Engl J Med*, 2008, 358(4): 369-374. DOI: 10.1056/NEJMoa0707255.
- [22] Koepsell SA, Landmark JD. Passenger lymphocyte syndrome: use of archived donor organ biopsy obtained at the time of transplantation for diagnosis[J]. *Am J Transplant*, 2013, 13(8): 2227. DOI: 10.1111/ajt.12343.
- [23] Yazer MH, Triulzi DJ. Immune hemolysis following ABO-mismatched stem cell or solid organ transplantation[J]. *Curr Opin Hematol*, 2007, 14(6): 664-670.
- [24] Botija G, Ybarra M, Ramos E, et al. Autoimmune cytopaenia after paediatric intestinal transplantation: a case series[J]. *Transpl Int*, 2010, 23(10): 1033-1037. DOI: 10.1111/j.1432-2277.2010.01091.x.
- [25] 王文婷, 张佩萍, 刘丽娜, 等. 过客淋巴细胞引起 ABO 非同型肝移植患者术后发生溶血反应 1 例 [J]. *中国输血杂志*, 2016, 29(2): 207-209. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2016.02.030.
- Wang WT, Zhang KP, Liu LN, et al. Passenger lymphocyte syndrome induced ABO incompatible hemolysis post liver transplantation: one case[J]. *Chin J Blood Transfus*, 2016, 29(2): 207-209. DOI: 10.13303/j.cjbt.issn.1004-549x.2016.02.030.
- [26] Taylor AL, Gibbs P, Sudhindran S, et al. Monitoring systemic donor lymphocyte macrochimerism to aid the diagnosis of graft-versus-host disease after liver transplantation[J]. *Transplantation*, 2004, 77(3): 441-446.
- [27] Rai V, Dietz NE, Agrawal DK. Immunological basis for treatment of graft versus host disease after liver transplant[J]. *Expert Rev Clin Immunol*, 2016, 12(5): 583-593. DOI: 10.1586/1744666X.2016.1145056.
- [28] Pujal JM, Gallardo D. PCR-based methodology for molecular microchimerism detection and quantification[J]. *Exp Biol Med* (Maywood), 2008, 233(9): 1161-1170. DOI: 10.3181/0802-RM-35.
- [29] Pollack MS, Speeg KV, Callander NS, et al. Severe, late-onset graft-versus-host disease in a liver transplant recipient documented by chimerism analysis[J]. *Hum Immunol*, 2005, 66(1):28-31.
- [30] Mullaney JM, Mills RE, Pittard WS, et al. Small insertions and deletions (INDELs) in human genomes[J]. *Hum Mol Genet*, 2010, 19(R2): R131-R136. DOI: 10.1093/hmg/ddq400.
- [31] Väli U, Brandström M, Johansson M, et al. Insertion-deletion polymorphisms (indels) as genetic markers in natural populations[J]. *BMC Genet*, 2008, 9:8. DOI: 10.1186/1471-2156-9-8.
- [32] Moris D, Lu L, Qian S. Mechanisms of liver-induced tolerance[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2017, 22(1): 71-78. DOI: 10.1097/MOT.0000000000000380.
- [33] Gendzekhadze K, Gaidulis L, Senitzer D. Chimerism testing by quantitative PCR using Indel markers[J]. *Methods Mol Biol*, 2013, 1034:221-237. DOI: 10.1007/978-1-62703-493-7_11.
- [34] Uhlmann EJ, Shenoy S, Goodnough LT. Successful treatment of recurrent hyperhemolysis syndrome with immunosuppression and plasma-to-red blood cell exchange transfusion[J]. *Transfusion*, 2014, 54(2): 384-388. DOI: 10.1111/trf.12258.
- [35] Hanto DW, Fecteau AH, Alonso MH, et al. ABO-incompatible liver transplantation with no immunological graft losses using total plasma exchange, splenectomy, and quadruple immunosuppression: evidence for accommodation[J]. *Liver Transpl*, 2003, 9(1): 22-30.
- [36] Tsujimura K, Ishida H, Tanabe K. Is efficacy of the anti-Cd20 antibody rituximab preventing hemolysis due to passenger lymphocyte syndrome?[J]. *Ther Apher Dial*, 2017, 21(1): 22-25. DOI: 10.1111/1744-9987.12483.
- [37] Hoffman PC. Immune hemolytic anemia--selected topics[J]. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2006: 13-18.
- [38] Gao W, Song JL, Yang J, et al. Successful treatment of severe immune thrombocytopenia after orthotopic liver transplant[J]. *Exp Clin Transplant*, 2016, DOI: 10.6002/ect.2015.0219 [Epub ahead of print].

(收稿日期: 2017-04-30)

(本文编辑: 邬加佳 吴秋玲)