



全文二维码

外周血嗜酸性粒细胞百分比对不同年龄段儿童肝移植术后早期急性排斥反应的预测价值

魏新哲 孙超 董冲 王凯 郑卫萍 张复波 韩潮 覃虹 杨洋 张国锋 徐敏
焦利俊 高伟

天津市第一中心医院儿童器官移植科,天津 300192

通信作者:高伟,Email:gao-wei@medmail.com.cn

【摘要】 目的 分析外周血嗜酸性粒细胞百分比与不同年龄段儿童肝移植术后发生早期急性排斥反应的相关性,评估外周血嗜酸性粒细胞百分比对儿童肝移植术后早期排斥反应的预测价值。 **方法**

回顾性分析天津市第一中心医院2019年1月至2020年12月396例肝移植患儿的临床资料,患儿年龄分布:0~1岁282例(0~1岁组),1~6岁92例(1~6岁组),>6岁22例(>6岁组)。根据6个月内肝穿刺活检病理结果分为急性排斥组($n=71$)和非排斥组($n=325$)。比较不同年龄急性排斥组和非排斥组患儿术后早期外周血嗜酸性粒细胞百分比均值的差异,绘制轮廓图并对两组连续测量的嗜酸性粒细胞百分比进行重复测量方差分析,以确定术后早期外周血嗜酸性粒细胞百分比与发生急性排斥反应之间的相关性。运用ROC曲线确定急性排斥反应发生的早期嗜酸性粒细胞百分比的临界值。 **结果**

术后早期急性排斥反应发生率为17.93%(71/396)。在0~1岁儿童肝移植受者中,术后早期嗜酸性粒细胞百分比均值与急性排斥反应的发生显著相关($P<0.05$),而其他年龄段的儿童肝移植受者术后早期嗜酸性粒细胞百分比均值与急性排斥反应的发生不存在相关性($P>0.05$);术后1~7 d急性排斥组的嗜酸性粒细胞百分比的连续变化值显著高于非排斥组($F=25.380, P<0.001$);在0~1岁儿童肝移植受者中,嗜酸性粒细胞百分比均值与急性排斥反应发生的ROC曲线显示,其曲线下面积为0.743(95% CI:0.668~0.817),灵敏度为63%,特异度为73%,临界值为3.23%,阳性预测值为31.18%(29/93),阴性预测值为91.05%(173/190)。 **结论** 在接受肝移植的儿童受者中,术后早期外周血嗜酸性粒细胞百分比均值对于0~1岁儿童肝移植后急性排斥反应的发生具有一定的预测价值,其特异度和阴性预测值较高,可作为早期风险筛查指标。

【关键词】 肝移植;移植物排斥;嗜酸细胞;影响因素分析;预测

基金项目:天津市重点学科(专科)建设项目

DOI:10.3760/cma.j.cn101785-202111020-005

Predictive value of eosinophil percentage during an early acute rejection after liver transplantation in children of different ages

Wei Xinzhe, Sun Chao, Dong Chong, Wang Kai, Zheng Weiping, Zhang Fubo, Han Chao, Qin Hong, Yang Yang, Zhang Guofeng, Xu Min, Jiao Lijun, Gao Wei

Department of Children's Organ Transplantation, First Central Municipal Hospital, Tianjin 300192, Tianjin

Corresponding author: Gao Wei, Email:gao-wei@medmail.com.cn

【Abstract】 Objective To explore the correlation between the percentage of eosinophils in peripheral blood and the occurrence of acute rejection and evaluate the predictive value of the percentage of eosinophils in blood for early rejection in children after liver transplantation (LT). **Methods** From January 2019 to December 2020, clinical data were retrospectively reviewed for children undergoing LT. They were divided into two groups of acute rejection and non-rejection based upon the pathological findings of liver biopsy within 6 months. The mean percentage of early postoperative eosinophil was compared between two groups. With a contour graph, repeated measurement ANOVA was performed for determining the correlation with the occurrence

of acute rejection. And receiver operating characteristic (ROC) curve was plotted for determining the critical mean percentage of eosinophil during an early stage of rejection. **Results** A total of 396 children undergoing LT were recruited. The postoperative incidence of early acute rejection was 17.93% (71/396). After stratification by age (0~1y/1~6y/>6y), the mean percentage of eosinophil during an early postoperative period was significantly correlated with the occurrence of rejection within 6 months in children aged 0~1 years, but not in children of other ages. The results of repeated measurement indicated that the mean percentage of eosinophil in acute rejection group was significantly higher than that in non-rejection group among children aged 0~1 ($F=25.38, P<0.001$). ROC curve of the mean percentage of eosinophil predicting the rejection reaction at 1~7 days showed that its area under curve (AUC) was 0.743 (95% CI: 0.668~0.817) with a sensitivity of 65%, a specificity of 74%, a critical value of 3.23%, a positive predictive value of 31.18% and a negative predictive value of 91.05%. **Conclusion** Among pediatric LT recipients, the mean percentage of eosinophil at Day 1~7 has certain predictive value for the occurrence of acute rejection after LT in children aged 0~1 years. With high specificity and negative predictive value, it may be utilized as an indicator of early risk screening.

[Key words] Liver transplantation; Graft rejection; Eosinophil; Root cause analysis; Forecasting

Fund program: Tianjin Municipal Key Project of Discipline (Specialty) Construction

DOI:10.3760/cma.j.cn101785-202111020-005

急性细胞排斥反应是肝移植受者的常见并发症,尤其是在移植术后的前12个月内,其发病率达30%~70%^[1-3]。移植后排斥反应是影响移植存活的关键因素之一,对此必须确保患儿得到及时有效的治疗^[4]。肝移植后急性排斥反应的早期预测和识别对于减少术后并发症和维持良好的肝功能至关重要。目前肝穿刺活检仍然是诊断急性排斥反应的金标准,但其具有侵入性,在临床上的应用有限^[5]。亚临床排斥反应的诊断或抗排斥反应治疗有效性的评估需要重复穿刺活检,且器官移植多发生在年龄不超过1岁的患儿中,更易因侵入性操作而导致感染等并发症^[6]。因此,迫切需要特异的、敏感的非创生物标志物来早期预测急性排斥反应的发生。外周血嗜酸性粒细胞预测肝移植术后排斥反应已有广泛研究,有文献报道强调了嗜酸性粒细胞在移植排斥反应中的预测作用^[7]。然而,这些研究大多以成人为研究对象,因儿童的免疫抑制机制和药代动力学特点与成人存在显著差异,同时需要接受肝移植的患儿生长发育个体差异较大,故本研究旨在初步探讨嗜酸性粒细胞百分比对不同年龄儿童肝移植术后急性排斥反应发生中的预测价值^[8]。

材料与方法

一、研究对象

以2019年1月至2020年12月于天津市第一中心医院行肝移植手术的396例儿童肝移植受者为研究对象,年龄均不超过14周岁,排除6个月内死

亡、再移植以及关键信息缺失的病例。患儿年龄分布:0~1岁282例(0~1岁组),1~6岁92例(1~6岁组),>6岁22例(>6岁组)。

根据病理结果按Banff评分进行分组,评分大于等于3分者归入急性排斥组($n=71$),小于3分者归入非排斥组($n=325$)^[9-10]。因穿刺活检仅在临床怀疑有移植排斥反应时进行,即当肝移植术后肝功能异常时(大部分表现为血清转氨酶、碱性磷酸酶或谷氨酰转肽酶突然上升)应进行肝穿刺活检以明确是否存在急性排斥反应,而无相应的临床表现时则不考虑急性排斥,所以未行肝穿刺活检者也归入非排斥组。本研究正式开始前经天津市第一医院伦理委员会审核批准,审批编号为2021N162KY。

二、标本采集

连续收集术后1~7d所有患儿外周血嗜酸性粒细胞百分比值。所有肝移植受者每日于口服免疫抑制剂前留取外周血2mL,置于抗凝管中,4℃环境下保存,并于3h内完成检测。

三、免疫抑制方案

年龄≤6岁的移植受者应用甲强龙+他克莫司两联方案,年龄>6岁的移植受者采用甲强龙+他克莫司+吗替麦考酚酯三联方案。他克莫司起始剂量为每日0.1~0.3mg/kg,血药浓度维持量为:术后1~3个月7~10ng/mL,术后4~6个月5~8ng/mL。吗替麦考酚酯剂量为10mg·kg⁻¹·d⁻¹,每日分两次服用,术后6个月停用。

四、统计学处理

运用SPSS 21.0进行统计学分析。符合正态分

布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 描述,计数资料以频数和百分比表示。运用独立样本 t 检验比较急性排斥组和非排斥组嗜酸性粒细胞百分比均值的差异。绘制轮廓图以直观比较急性排斥组和非排斥组整体变化曲线,并对两组术后 1~7 d 的嗜酸性粒细胞百分比进行重复测量方差分析。绘制 ROC 曲线以确定嗜酸性粒细胞百分比对发生急性排斥反应的预测价值。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、不同年龄组受者嗜酸性粒细胞百分比均值的比较

急性排斥反应总体发生率为 17.93% (71/396),0~1 岁组急性排斥反应发生率为 16.31% (46/282),1~6 岁组急性排斥反应发生率为 21.73% (20/92),>6 岁组急性排斥反应发生率为 22.73% (5/22)。急性排斥组嗜酸性粒细胞百分比均值显著高于非排斥组($t = -4.380, P < 0.001$);但按年龄分层后,只有 0~1 岁儿童肝移植受者中两组间嗜酸性粒细胞百分比均值的差异具有统计学意义($t = -4.850, P < 0.001$);而在 1~6 岁和>6 岁的儿童肝移植受者中,两组均值的差异均不具有统计学意义($P > 0.05$);故下文仅针对 0~1 岁儿童肝移植受者进行进一步分析。详见表 1。

二、0~1 岁受者术后早期嗜酸性粒细胞百分比变化趋势图

急性排斥组和非排斥组术后 1~7 d 连续测量的嗜酸性粒细胞百分比值变化趋势见图 1,经重复测量方差分析,组间比较结果显示 $F = 25.380, P <$

表 1 两组不同年龄肝移植患儿术后嗜酸性粒细胞百分比比较($\bar{x} \pm s, \%$)

Table 1 Comparison of mean percentages of eosinophils stratified by recipient age($\bar{x} \pm s, \%$)				
分组	例数	0~1 岁 ($n = 282$)	1~6 岁 ($n = 92$)	>6 岁 ($n = 22$)
非排斥组	325	2.42 \pm 2.13	3.08 \pm 3.07	2.21 \pm 0.55
急性排斥组	71	4.67 \pm 3.00	3.58 \pm 2.50	1.69 \pm 1.03
t 值		-4.850	-0.680	0.500
P 值		<0.001	0.500	0.630

0.001,表明术后 1~7 d 内,急性排斥组与非排斥组嗜酸性粒细胞百分比值存在显著差异,急性排斥组显著高于非排斥组($P < 0.05$)。

三、术后 1~7 d 嗜酸性粒细胞百分比均值预测急性排斥反应发生的 ROC 曲线

以术后肝穿刺活检的病理结果作为诊断排斥反应的金标准绘制 ROC 曲线,结果如图 2 所示,可见术后 1~7 d 连续测量的嗜酸性粒细胞百分比均值对急性排斥反应的发生具有一定的预测作用($P < 0.001$),其曲线下面积为 0.743(95% CI:0.668~0.817),灵敏度为 63% (29/46),特异度为 73% (173/236),临界值为 3.23%,阳性预测值为 31.18% (29/93),阴性预测值为 91.05% (173/190)。

讨 论

本研究结果显示,儿童肝移植术后早期急性排斥反应的发生率为 17.93%,术后早期嗜酸性粒细胞百分比升高与 0~1 岁儿童急性排斥反应的发生显著相关。在 0~1 岁儿童肝移植受者中,术后 7 d 嗜酸性粒细胞百分比越高的患儿发生排斥反应的

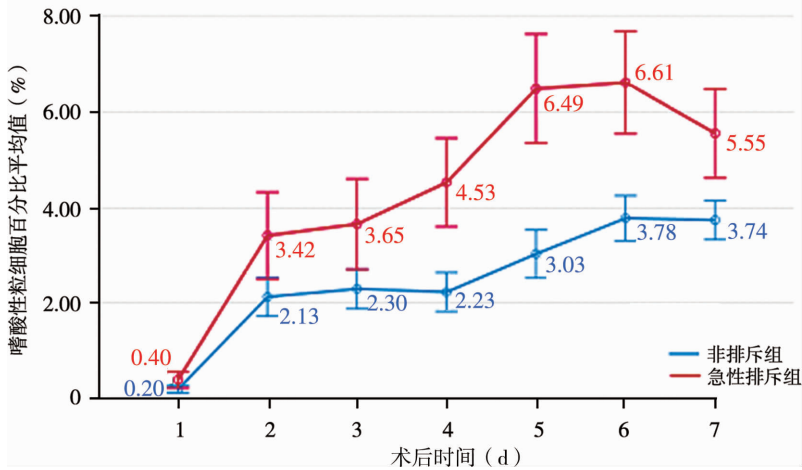


图 1 0~1 岁儿童术后 1~7 d 嗜酸性粒细胞百分比变化趋势轮廓图
Fig. 1 Profile of eosinophil percentage changes at Day 1-7 post-operation among children aged 0-1

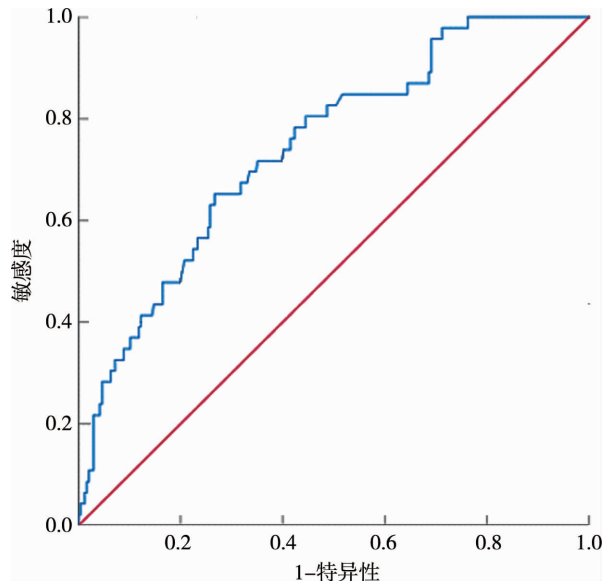


图2 0~1岁肝移植儿童术后1~7 d嗜酸性粒细胞百分比均值预测急性排斥反应的受试者操作特征曲线

Fig.2 ROC curves of mean percentage of eosinophil for acute rejection prediction at Day 1-7 after transplantation among children aged 0-1

概率越高。嗜酸性粒细胞在炎症反应和过敏反应中发挥着潜在作用^[11]。肝移植术后导致急性排斥反应的免疫机制与抗原呈递细胞表面表达的同种异体抗原的活化有关,尤其是主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II类分子对CD4⁺T淋巴细胞的活化。效应细胞范围包括CD8细胞毒性T细胞、巨噬细胞/单核细胞、中性粒细胞和嗜酸性粒细胞,而免疫抑制剂的应用与这些效应细胞的产生和消亡密切相关^[12]。本研究中,只有0~1岁儿童肝移植受者的嗜酸性粒细胞百分比均值与急性排斥反应的发生存在相关性,可能与临床医生根据患儿年龄及生长发育状况调整免疫抑制剂方案有关。嗜酸性粒细胞相关指标与排斥反应的发生密切相关^[13]。随后也有研究者发现,在肺移植和心脏移植中嗜酸性粒细胞相关指标依然与排斥反应发生显著相关^[7,14]。近期一项评估使用无创标志物诊断肝移植术后同种异体排斥反应的Meta分析显示,外周血嗜酸性粒细胞计数是在多个研究中提及的预测排斥反应发生的唯一无创指标^[5,15]。然而,以往的研究群体大部分为成人,很少关注儿童群体。在接受肝移植的低龄儿童群体中,我们发现嗜酸性粒细胞百分比值与排斥反应的发生高度相关,这与国外的一项回顾性研究结果一致,该报道指出在超过35%的急性细胞排斥反应中,血液和移植植物中的嗜酸性粒细胞增多与排斥反应发生相关^[16-18]。

在移植术后早期,嗜酸性粒细胞百分比值持续较高的儿童肝移植受者出现排斥反应的可能性更高。既往文献表明,嗜酸性粒细胞增多比急性排斥反应发生早2~4 d,比其他排斥反应相关生化参数升高早2~3 d^[17]。因此,多数研究均以肝穿刺活检前2 d或活检当天的嗜酸性粒细胞值作为排斥反应发生的预测因子。然而,这些研究重点关注已经发生急性排斥反应时嗜酸性粒细胞计数的急性上升,削弱了嗜酸性粒细胞值对于急性排斥反应的早期预测价值。本研究更关注早期嗜酸性粒细胞百分比值对于急性排斥反应发生的预测作用,以提醒医生提早预防排斥反应的发生。

此外,早期嗜酸性粒细胞百分比均值水平对于急性排斥反应发生的诊断试验中,特异度为73%,以3.23%作为临界值时,其阳性预测值偏低,但阴性预测值达91.05%,说明早期嗜酸性粒细胞百分比均值水平低于3.23%的肝移植术后儿童出现急性排斥反应的概率较小。当临床怀疑急性排斥反应时,结合早期嗜酸性粒细胞百分比水平,可以避免对某些小月龄患儿行肝穿活检,从而有效降低移植术后儿童的感染风险。

综上所述,我们认为0~1岁儿童术后早期嗜酸性粒细胞百分比水平对术后急性排斥反应的发生具有一定的预测价值。术后早期嗜酸性粒细胞百分比水平可作为临床急性排斥反应发生的风险筛查指标,同时也可避免不必要的肝穿刺活检,有效避免不可逆损伤以及由侵入性操作引起的并发症。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 文献检索为魏新哲,论文调查设计为魏新哲、高伟,数据收集与分析为魏新哲、张复波、杨洋、覃虹、韩潮、张国锋、徐敏、焦利俊,论文结果撰写为魏新哲、孙超,论文讨论分析为魏新哲、高伟、董冲、王凯、郑卫萍

参 考 文 献

- [1] Kobayashi S, Nagano H, Marubashi S, et al. Guanylate-binding protein 2 mRNA in peripheral blood leukocytes of liver transplant recipients as a marker for acute cellular rejection [J]. *Transpl Int*, 2010, 23 (4): 390-396. DOI:10.1111/j.1432-2277.2009.00991.x.
- [2] Rodríguez-Perálvarez M, Rico-Juri JM, Tsochatzis E, et al. Biopsy-proven acute cellular rejection as an efficacy endpoint of randomized trials in liver transplantation: a systematic review and critical appraisal [J]. *Transpl Int*, 2016, 29 (9): 961-973. DOI: 10.1111/tri.12737.
- [3] Ye Z, Jia J, Lv Z, et al. Identification of high-mobility group box 1 (HMGB1) expression as a potential predictor of rejection and poor prognosis after liver transplantation [J]. *Ann Transplant*, 2021, 26: e931625. DOI:10.12659/AOT.931625.

- [4] Kohut TJ, Barandiaran JF, Keating BJ. Genomics and liver transplantation; genomic biomarkers for the diagnosis of acute cellular rejection[J]. Liver Transpl, 2020, 26 (10): 1337-1350. DOI: 10.1002/lt.25812.
- [5] Krenzien F, Keshi E, Splith K, et al. Diagnostic biomarkers to diagnose acute allograft rejection after liver transplantation; systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy studies[J]. Front Immunol, 2019, 10: 758. DOI: 10.3389/fimmu.2019.00758.
- [6] 张菁,董念国,孙永丰,等. 4例婴儿心脏移植的单一中心经验总结[J]. 临床小儿外科杂志, 2021, 20(6): 532-537. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2021.06.006.
- Zhang J, Dong NG, Sun YF, et al. Infantile heart transplantation; a report of four cases from a single center[J]. J Clin Ped Sur, 2021, 20(6): 532-537. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6353.2021.06.006.
- [7] Darley DR, Ma J, Huszti E, et al. Eosinophils in transbronchial biopsies; a predictor of chronic lung allograft dysfunction and reduced survival after lung transplantation-a retrospective single-center cohort study[J]. Transpl Int, 2021, 34(1): 62-75. DOI: 10.1111/tri.13760.
- [8] Gabardi S, Tullius SG, Krenzien F. Understanding alterations in drug handling with aging; a focus on the pharmacokinetics of maintenance immunosuppressants in the elderly[J]. Curr Opin Organ Transplant, 2015, 20(4): 424-430. DOI: 10.1097/MOT.000000000000220.
- [9] 中华医学会器官移植学分会. 器官移植病理学临床技术操作规范(2019版)——肝移植[J]. 器官移植, 2019, 10(3): 267-277. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.03.008.
- Society of Organ Transplantation, Chinese Medical Association; Clinical Technique Handling Standards (2019 Edition)[J]. Organ Transplantation, 2019, 10(3): 267-277. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7445.2019.03.008.
- [10] Roufosse C, Simmonds N, Clahsen-van Groningen M, et al. A 2018 reference guide to the banff classification of renal allograft pathology[J]. Transplantation, 2018, 102(11): 1795-1814. DOI: 10.1097/TP.0000000000002366.
- [11] Onyema OO, Guo Y, Hata A, et al. Deciphering the role of eosinophils in solid organ transplantation[J]. Am J Transplant, 2020, 20(4): 924-930. DOI: 10.1111/ajt.15660.
- [12] Harper IG, Gjorgijajkoska O, Siu J, et al. Prolongation of allograft survival by passenger donor regulatory T cells[J]. Am J Transplant, 2019, 19(5): 1371-1379. DOI: 10.1111/ajt.15212.
- [13] Hällgren R, Bohman SO, Fredens K. Activated eosinophil infiltration and deposits of eosinophil cationic protein in renal allograft rejection[J]. Nephron, 1991, 59(2): 266-270. DOI: 10.1159/000186563.
- [14] Arbon KS, Albers E, Kemna M, et al. Eosinophil count, allergies, and rejection in pediatric heart transplant recipients[J]. J Heart Lung Transplant, 2015, 34(8): 1103-1111. DOI: 10.1016/j.healun.2015.03.014.
- [15] Barnes EJ, Abdel-Rehim MM, Goulis Y, et al. Applications and limitations of blood eosinophilia for the diagnosis of acute cellular rejection in liver transplantation[J]. Am J Transplant, 2003, 3(4): 432-438. DOI: 10.1034/j.1600-6143.2003.00083.x.
- [16] 郑善鑫,丁振若,皇海,等. 外周血反应性嗜酸细胞诊断器官移植术后急性排斥反应的价值[J]. 第四军医大学学报, 2005, 26(5): 425-427. DOI: 10.3321/j.issn:1000-2790.2005.05.013.
- Zhen SL, Ding ZR, Huang H, et al. Value of responsive acidophil in peripheral blood in the diagnosis of acute graft rejection[J]. Journal of Fourth Military Medical University, 2005, 26(5): 425-427. DOI: 10.3321/j.issn:1000-2790.2005.05.013.
- [17] Nagral A, Quaglia A, Sabin CA, et al. Blood and graft eosinophils in acute cellular rejection of liver allografts[J]. Transplant Proc, 2001, 33(4): 2588-2593. DOI: 10.1016/s0041-1345(01)02105-4.
- [18] Rodríguez-Perúlvarez M, García-Caparrós C, Tsochatzis E, et al. Lack of agreement for defining ‘clinical suspicion of rejection’ in liver transplantation; a model to select candidates for liver biopsy[J]. Transpl Int, 2015, 28(4): 455-464. DOI: 10.1111/tri.12514.

(收稿日期:2021-11-10)

本文引用格式:魏新哲,孙超,董冲,等. 外周血嗜酸性粒细胞百分比对不同年龄段儿童肝移植术后早期急性排斥反应的预测价值[J]. 临床小儿外科杂志, 2022, 21(5): 420-424. DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202111020-005.

Citing this article as: Wei XZ, Sun C, Dong C, et al. Predictive value of eosinophil percentage during an early acute rejection after liver transplantation in children of different ages[J]. J Clin Ped Sur, 2022, 21(5): 420-424. DOI: 10.3760/cma.j.cn101785-202111020-005.

关于 RCT 中随机化的问题

随着许多小儿外科新兴治疗方法的诞生,目前许多研究中心都在开展 RCT。RCT 结论的可靠性很大程度上依赖于不同组别的研究对象是否具有足够的可比性,于是引入了随机化这一概念。随机绝不等同于随便,因为随便分组的过程大多只考虑到分组的方便性,其本质还是根据研究者意愿进行的分组。随机是使参与研究的每一个分配单位(可以是个体,也可以是群体)通过一个已知且相同的概率被分配到某一干预组中。如果研究中设有 A 和 B 两个治疗组,拟定的方案中两组人数比例近似为 1:1,那么标准的随机化过程应该能保证能实现对每个入组的病人而言进入 A 组或 B 组的概率是相等的。但同时,实际临床应用过程中还需要考虑基线资料匹配的问题,因此单纯的随机抽样在实际临床中的应用也相对较少,通常还需结合相应的统计学方法对匹配过程进行进一步标准化。