DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2021.07.07

· 临床研究 ·

非 Rh 血型系统意外抗体血清学特征及临床意义

孟博^{1a}, 周春刚^{1b}, 臧荣发^{1a}, 胡建明^{1a}, 谢而付²(1. 南京中医药大学无锡附属医院 a. 检验科, b. 中心实验室, 江苏无锡 214071; 2. 南京医科大学第一附属医院检验学部, 南京 210029)

摘要:目的 探讨 Rh 血型以外的同种意外抗体、自身抗体的血清学特征及临床意义。方法 采用低离子盐水介质法、微柱凝胶介质法和经典抗人球蛋白分析等实验方法对 67 例患者标本进行意外抗体筛查分析、抗体特异性诊断及鉴定实验、免疫球蛋白种类分析及抗体效价测定。结果 在 67 例 Rh 血型系统以外的同种意外抗体、自身抗体中, 同种意外抗体 55 例(55/67, 82.1%), 自身抗体 12 例(12/67, 17.9%)。在免疫球蛋白分类中, 单纯 IgG 型 22 例(22/67, 32.8%)、单纯 IgM 型 37 例(37/67, 55.2%)、IgG+IgM 型 8 例(8/67, 11.9%)。同种意外抗体在不同疾病分布中以血液系统疾病和实体肿瘤居多, 分别为 21 例(21/55, 38.2%)和 17 例(17/55, 30.9%)。自身抗体在血液系统疾病和自身免疫病占比较高, 分别为 5 例(5/12, 41.7%)和 4 例(4/12, 33.3%)。结论 Rh 血型以外的同种意外抗体、自身抗体检测对于输血相容性检测、降低无效输血发生率及指导临床用血有十分重要的临床意义。

关键词:同种意外抗体; 自身抗体; 抗体特异性; 输血相容性检测

中图分类号:R446

文献标志码:A

如何既能积极配合临床治疗又能保证血制品输注的安全性和有效性一直是临床输血关注的焦点^[1-2]。如何清除障碍, 精确查找引起交叉配血不相合、无效输血的原因, 了解意外抗体的生物学性质和特异性, 采取有针对性的检测手段和方法对其进行特异性鉴定, 并且可以选择性的输注相应的血制品, 对确保患者及时、安全、有效的交叉配血诊断和临床治疗非常重要。

现代输血技术日新月异, 输血前的检验流程也越来越标准化和规范化, Rh 血型系统的价值和临床应用受到重视, 而非 Rh 血型系统的同种意外抗体、自身抗体诱导引起的迟发性输血反应、新生儿溶血病、无效输血比例却逐渐上升^[3]。本研究对 67 例 Rh 血型以外的同种意外抗体、自身抗体进行检测, 探讨其抗体性质以及在疾病中的分布情况。

1 材料和方法

1.1 研究对象 2018 年 3 月 1 日至 2020 年 10 月 31 日在南京中医药大学无锡附属医院接受治疗并住院的患者, 在输注血制品前进行常规输血相容性检测, 在筛查中发现意外抗体并且最终鉴定为 Rh 血型系统以外意外抗体的患者 67 例, 其中男性 23 例, 女性 44 例, 年龄 26~92 岁。

1.2 试剂与仪器 Microlab STARlet IVD 全自动血

型分析仪、TD-A 型凝胶卡专用离心机购自长春博研医学生物仪器公司; 血清学离心机购自无锡市瑞江分析仪器公司; 恒温水浴箱购自金坛恒丰仪器厂; 显微镜购自 Olympus 公司。

I、II、III 号抗体筛选细胞、微柱凝胶卡购自长春博迅生物技术公司; 广谱及单特异性抗人球蛋白试剂、谱细胞、2-巯基乙醇(2-Me)应用液、抗 M、抗 N、抗 P₁ 血型试剂购自上海血液生物公司, 抗 Le^a、抗 Le^b、抗 S、抗 Jk^a、抗 Jk^b、抗 Fy^a、抗 Fy^b 血型试剂购自 Biotest 公司。

1.3 检测方法

1.3.1 意外抗体筛查及鉴定 采用盐水试管法、经典抗人球蛋白法和微柱凝胶卡法对待检血清进行意外抗体筛查和抗体特异性鉴定。

1.3.2 意外抗体免疫球蛋白类型鉴定 采用盐水试管法检测, 以查明待检血清中是否存在 IgM 型抗体; 采用经典抗人球蛋白法和微柱凝胶卡法检测, 以查明待检血清中是否存在 IgG 型抗体; 盐水试管法抗体检测结果阳性者, 采用 2-Me 处理待检血清后, 再用经典抗人球蛋白法和微柱凝胶卡法检测, 以查明待检血清中是否同时存在 IgM 型和 IgG 型抗体。抗体检测过程中, 采用自身对照并行试验, 以确定待检血清或红细胞上是否存在冷凝集素或温自身抗体。

作者简介:孟博, 1978 年生, 男, 副主任技师, 大学本科, 主要从事临床输血工作。

通信作者:谢而付, 主任技师, E-mail: xieerfu@njmu.edu.cn。

1.3.3 直接抗人球蛋白试验 将红细胞用少量生理盐水冲洗 3 次,配成 3%浓度的红细胞悬液待用,将 50 μ L 多特异性和单特异性抗 IgG 及抗 C3d 抗人球蛋白试剂分别加入标记好的试管中,再加入 50 μ L 待检红细胞悬液,混匀,盐水管为阴性对照,以 3 000 r/min 离心 15 s,观察是否有凝集或溶血。

1.3.4 效价测定 根据同种抗体的特异性,选取相应抗原阳性红细胞,用盐水试管法、经典抗人球蛋白法测定效价。

2 结果

2.1 意外抗体特异性和自身抗体分布 见表 1。在 67 例 Rh 血型以外同种意外抗体、自身抗体中,男 23 例(23/67,34.3%),女 44 例(44/67,65.7%)。同种意外抗体 55 例(55/67,82.1%),同种意外抗体中 MNSs 血型体系(包括抗 M、抗 N 和抗 S)22 例(22/67,32.8%),Lewis 血型体系(包括抗 Le^a 和抗 Le^b)21 例(21/67,31.3%),Kidd 血型体系(包括抗 Jk^a 和抗 Jk^b)5 例(5/67,7.5%),Duffy 血型体系(包括抗 Fy^b)4 例(4/67,6.0%),P 血型体系 1 例(1/67,1.5%),抗 E 合并抗 Fy^b 1 例(1/67,1.5%),

未明确的不规则抗体 1 例(1/67,1.5%)。自身抗体 12 例(12/67,17.9%),自身抗体中温自身抗体 10 例(10/67,14.9%),冷凝集素 2 例(2/67,3.0%)。

表 1 非 Rh 血型的同种意外抗体和自身抗体的血清学特征(n=67)

抗体种类	特异性抗体名称	n	直接人球蛋白试验		
			多克隆 抗体	抗 IgG	抗 C3d
同种意外抗体	MNSs 血型体系	22	N	N	N
	Lewis 血型体系	21	N	N	N
	Kidd 血型体系	5	N	N	N
	Duffy 血型体系	4	N	N	N
	P 血型体系	1	N	N	N
	抗 E+抗 Fy ^b	1	N	N	N
	未明确的不规则抗体	1	P	P	P
自身抗体	温自身抗体	10	P	P	P
	冷凝集素	2	P	N	P

注:P 代表阳性,N 代表阴性。

2.2 意外抗体免疫球蛋白类型分布及效价 在免疫球蛋白分类中,IgG 型 22 例(22/67,32.8%),IgM 型 37 例(37/67,55.2%),IgG+IgM 型 8 例(8/67,11.9%),见表 2。

表 2 意外抗体和自身抗体的免疫球蛋白类型分布(n=67)

抗体种类	特异性抗体名称	Ig 分类			效价
		IgG 型	IgM 型	IgG+IgM	
同种意外抗体	MNSs 血型体系	2	16	4	1:4~1:32
	Lewis 血型体系	0	18	3	1:1~1:4
	Kidd 血型体系	5	0	0	1:4~1:16
	Duffy 血型体系	3	0	1	1:2~1:4
	P 血型体系	0	1	0	1:1
	抗 E+抗 Fy ^b	1	0	0	1:16,1:4
	未明确的不规则抗体	1	0	0	1:8
自身抗体	温自身抗体	10	0	0	1:4~1:8
	冷凝集素	0	2	0	1:256
合计		22	37	8	—

2.3 意外抗体、自身抗体在不同疾病中分布 在 67 例患者中,同种意外抗体在不同疾病分布中以血液病 21 例(21/55,38.2%)和实体肿瘤 17(17/55,

30.9%)居多,自身抗体以自身免疫病 4 例(4/12,33.3%)和血液病 5 例(5/12,41.7%)占比较高,67 例患者在疾病中的分布以及抗体性质见表 3。

表 3 不同疾病中非 Rh 血型外意外抗体和自身抗体分布(n=67)

疾病名称	同种意外抗体 [n(%)]	自身抗体 [n(%)]	Ig 分类		
			IgG 型	IgM 型	IgG+IgM
血液系统疾病	21(38.2)	5(41.7)	15	7	4
实体瘤	17(30.9)	1(8.3)	2	14	2
骨关节病	8(14.5)	0(0)	0	7	1
肝纤维化	5(9.1)	1(8.3)	1	4	1
自身免疫病	0(0)	4(33.3)	4	0	0
消化道出血	3(5.5)	0(0)	0	3	0
感染性疾病	1(1.8)	1(8.3)	0	2	0
合计	55	12	22	37	8

3 讨论

意外抗体筛查对于输血相容性检测非常重要,有益于保障患者输血安全^[4]。研究建议,抗筛结果阳性的标本要进一步做抗体的鉴定,包括鉴定抗体的性质和抗体的种类;鉴定出有临床意义的意外抗体后,即使患者由于抗体滴度降低无法检测出来,都需要始终选择抗原阴性的红细胞来输注^[5-6]。IgG 型抗体分子量小,可通过胎盘屏障引起新生儿溶血病^[7]。IgM 型抗体分子量较大,不能越过胎盘屏障,但可以通过激活补体,破坏红细胞,引起急性溶血性输血反应。IgM 型抗体还可以与含有相应抗原的红细胞在盐水介质中出现凝集,干扰血型鉴定和输血相容性检测,给临床及时和有效的输血方案带来困难^[8]。

本研究中,38 例抗体种类为 IgM 的抗体主要分布在 MNSs 血型体系、Lewis 血型体系、P 血型体系和冷凝激素中。MNSs 血型体系是除 Rh 体系外最具复杂性和多态性的血型体系^[9],MNSs 血型体系最常见的抗原是 M、N、S、s^[10]。MNSs 血型体系中抗 M 比例相对较高且绝大部分都被认为是自然免疫形成的 IgM 型抗体^[11]。与 ABO 血型体系抗体的形成机制不同,MNS 血型体系的抗体出现没有规则,不能恒定地出现在缺乏相应抗原者的体内^[12];IgM 型的抗 M 抗体在 37 °C 的抗人球蛋白介质中活性较小,会造成血型识别与交叉配血困难^[13],但一般在体内不会引起溶血性输血反应;而在糖尿病患者体内可激活补体,引起溶血反应^[14]。Lewis 血型系统的抗 Le^a 抗体和 P 系统中的抗 P₁ 抗体也是此种类型抗体,可导致溶血性输血反应或诱发新生儿溶血病^[15]。本研究中还有 2 例患者血清内含有 IgM 型冷凝集素,在某些特殊的病理状态下,如支原体肺炎、传染性单核细胞增多症、恶性淋巴瘤等,患者体内可能会产生高效价冷凝集素,能介导红细胞之间发生凝集并通过结合补体破坏红细胞而发生溶血^[16]。本研究中 2 例冷凝激素效价较高,均为 256。

21 例 IgG 类抗体主要分布在 Kidd 血型体系、Duffy 血型体系和温自身抗体。Kidd 血型体系抗原性较弱,包含 3 个血型抗原,分别为 Jk^a、Jk^b 及 Jk³。最常见的抗 Jk^a 和抗 Jk^b 抗体,可导致严重迟发性溶血反应和中等程度的新生儿溶血病的发生^[17]。本研究中 5 例抗 Jk^a 和抗 Jk^b 抗体阳性患者均有妊娠或输血免疫史,抗体效价为 4~16。抗 Fy^a、抗 Fy^b

抗体被广泛认为是 Duffy 血型体系中的常见抗体,其中以抗 Fy^b 抗体居多,为反复输血和妊娠产生的 IgG 类抗体,可导致溶血性输血反应、引起新生儿溶血病及自身免疫病等^[18]。Duffy 血型系统常常会合并其他常见的意外抗体,容易造成 Duffy 血型抗体的漏检^[19]。本研究中就有 1 例为抗 E 合并抗 Fy^b 意外抗体。对于温自身抗体在输血相容性检测中所起作用的重要性也不容忽视,盲目输血可加速患者红细胞破裂,导致患者尿尿、黄疸和贫血等临床症状加重,甚至引起严重溶血性输血反应^[20]。

本研究中同种意外抗体多见于血液病和实体肿瘤,可能原因为本院为中医医院,收治患者年龄偏大,反复贫血,有多次的异体输血史,机体受到多次免疫刺激,从而导致同种意外抗体的产生。本研究中的自身抗体多发生于各种血液病和自身免疫病患者,可能原因为以上 2 种疾病反复输血,机体受到多次免疫刺激所致。本研究中还发现有 1 例自身抗体阳性为慢性肝硬化患者,可能原因为肝巨噬细胞功能障碍,导致免疫复合物在血液中积累,被人体红细胞膜上的 C3b 受体所吸收和黏附,导致自身抗体形成和产生^[21]。此外,自身抗体阳性患者可能会掩盖同种意外抗体的存在,从而引起输血反应。因此上述患者在临床输血治疗前更应重视血型抗原的相合性输注,避免发生输血反应^[22]。

综上所述,Rh 血型以外的同种意外抗体、自身抗体检测在输血相容性检测、减低无效输血的发生率和指导临床用血上有重要的临床意义。输血科应建立意外抗体阳性鉴定及交叉配血的规范体系,为临床安全、合理、有效用血提供有力保障。

4 参考文献

- [1] Waler PS. Identification of antibodies to red cell antigens. In: Roback JD, Grossman BJ, Harris T. *et al.* Technical manual 17th edition[M]. the United States:AABB, 2011: 463-493.
- [2] Noiret L, Slater A, Higgins JM. Determinants of red blood cell alloantibody detection duration: analysis of multiply alloimmunized patients supports peritransfusion factors[J]. *Transfusion*, 2017, 57(8): 1930-1937.
- [3] Ferrer G, Navarro A, Hodgson K, *et al.* MicroRNA expression in chronic lymphocytic leukemia developing autoimmune hemolytic Anemia[J]. *Leuk Lymphoma*, 2013, 54(9): 2016-2022.
- [4] Dinh A, Eliason K, Dzik WS. Time interval between antibody investigations among patients who demonstrate serial red cell antibody formation[J]. *Transfusion*, 2019, 59(2): 738-743.
- [5] López-Díaz PE, Ruiz-Olivera MDR, Hernández-Osorio LA, *et al.* Irregular antibodies in no hemolytic autoimmune diseases are able to

- induce erythrophagocytosis[J]. *Immunol Res*, 2017, 65(1): 410-418.
- [6] Hashimoto A, Fujimi A, Kanisawa Y, *et al*. Successful rituximab treatment for acquired amegakaryocytic thrombocytopenic *Purpura* complicated with Coombs-negative autoimmune hemolytic *Anemia* [J]. *Rinsho Ketsueki*, 2013, 54(6): 568-573.
- [7] 崔颖, 陈扬, 魏华, 等. 妊娠妇女 ABO/RhD 血型和不规则抗体特征及临床意义[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(16): 3632-3635.
- [8] 张勇萍, 杨琳, 杨世明, 等. 56 例不规则抗体引起 ABO 血型正反定型不相符的分析[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(2): 250-252.
- [9] 梁延连, 苏宇清, 喻琼, 等. MN 血型 *GYP A* 基因测序方法的建立及应用于汉族人群检测[J]. *中国输血杂志*, 2010, 23(11): 934-937.
- [10] 朱自严, 郭忠慧, 张雄民. 人类血型系统[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2002: 52-54.
- [11] 刘婧婧, 王艳侠, 甘佳. MNS 血型系统同种抗体的分布、性质与免疫史研究[J]. *北京医学*, 2015, 37(11): 1111-1113.
- [12] Mohamed S, Muna I. Characterisation of rh and other blood group systems amongst the Maldivian blood donors[J]. *Med J Malays*, 2013, 68(5): 393-396.
- [13] Somi SK, Goyal H, Sood SK, *et al*. Anti-m antibody in solid tumors-two case reports[J]. *Indian J Hematol Blood Transfus*, 2014, 30(suppl 1): 49-53.
- [14] 苏秀琼, 陈奕霞, 蓝建崇, 等. 不规则抗体筛查对提高临床输血安全的价值研究[J]. *检验医学与临床*, 2014, 11(4): 448-449.
- [15] 焦立新, 陈琳, 杨帆, 等. 抗-S 引起新生儿溶血病 1 例[J]. *中国实验诊断学*, 2016, 20(3): 509-510.
- [16] Onishi S, Ichiba T, Miyoshi N, *et al*. Unusual underlying disorder for pulmonary embolism; Cold agglutinin disease[J]. *J Cardiol Cases*, 2017, 15(2): 43-45.
- [17] 王玲, 刘毅, 吴敏慧. 抗-Jk^a 免疫性抗体致速发性溶血性输血反应探讨[J]. *临床输血与检验*, 2012, 14(2): 168-170.
- [18] 苏宇清, 梁延连, 张印则, 等. Duffy 血型研究及临床应用新进展[J]. *实验与检验医学*, 2012, 30(5): 452-455.
- [19] 蔡茵莎, 黄曙方, 陈传贵. Duffy 血型系统抗-fyb 引起新生儿溶血 1 例[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30(7): 555.
- [20] 董予新, 刘怀慧, 马砚敏. 红细胞温自身抗体引起交叉配血不合的解决对策[J]. *中国误诊学杂志*, 2011, 11(10): 2354-2355.
- [21] 黄从云, 彭淑隳. 肝硬化与肝脏免疫系统[J]. *国外医学(外科学分册)*, 2004, 31(2): 102-105.
- [22] 夏荣, 兰炯采. 重视红细胞输注无效, 提高临床输血效果[J]. *中国输血杂志*, 2008, 21(1): 5.

(收稿日期: 2021-03-04)

(本文编辑: 王海燕)