

· 论著 ·

文章编号: 1007 - 8738 (2008) 06 - 0604 - 03

Rh血型抗体的检测及结果分析

吴远军, 吴 勇, 陈宝婵, 刘 艳 (中山大学附属东华医院输血科, 广东 东莞 523110)

Detection and analysis of anti-Rh blood group antibodies

WU Yuan-jun, WU Yong, CHEN Bao-chan, LIU Yan

Department of Transfusion of The Affiliated Tung Wah Hospital of Sun Yet-sen University, Dongguan 523110, China

[Abstract] **AM:** To study the prevalence and distribution of anti-Rh blood group antibodies in Chinese population and its clinical significance. **METHODS:** Irregular antibodies were screened and identified by Microcolumn Gel Coomb's test. For those identified as positive anti-Rh samples, monoclonal antibodies (anti-D, -C, -c, -E and -e) were used to identify the specific antigen and confirm the accuracy of the irregular antibody tests. The titers, Ig-types and 37⁻ reactivity were tested to confirm its clinical significance. For evaluation of the origin of irregular antibodies, histories of pregnancy and transfusion were reviewed. For the newborns who had positive antibodies, their mothers were tested simultaneously to confirm the origin of the antibodies. **RESULTS:** 47 out of 54 000 (0.087%) patients were identified as positive with Rh blood group antibodies. Of them, 27 cases had history of pregnancy, 13 had transfusion and 1 had the histories of both. 6 newborns had antibodies derived from their mothers. The specificity of the antibody was as follows: 29 with anti-E (61.70%), 8 with anti-D (17.02%), anti-cE 5 (10.64%), 4 with anti-c (8.51%) and 1 with anti-C (2.13%). All the 47 Rh blood group antibodies were IgG or IgG + IgM, and were reactive to red blood cells with corresponding antigens at 37⁻, with a highest titer of 1:4096. **CONCLUSION:** The prevalence of Rh antibodies is lower in Chinese population as compared with that in White population. Of all the antibodies, anti-E is most frequently identified and anti-D was declining. Alloimmunization by pregnancy and transfusion is the major cause of Rh antibody production. Rh blood group antibodies derived from mothers are the major cause of Non-ABO-HDN.

[Keywords] Rh blood group; irregular antibodies; immune hemolytic transfusion reaction; haemolytic disease of the fetus and newborn; Microcolumn Gel Coomb's test

[摘要] 目的: 调查 Rh血型抗体的检出率及其特异性分布特点, 分析 Rh血型抗体的临床意义及产生规律。方法: 采用微柱凝胶抗球蛋白技术筛查和鉴定红细胞血型不规则抗体, 对鉴定为 Rh血型抗体者, 采用单克隆抗-D、抗-C、抗-c、抗-E、抗-e鉴定红细胞 Rh血型抗原, 以确认抗体的准确性; 检测抗体的效价、Ig类型及 37⁻ 反应性, 以明确其临床意义; 询问孕产史、输血史, 如果为新生儿检测其母亲血浆中是否有相同特异性的抗体, 以分析抗体产生的原因。结果: 就诊者 54 000例, 共检出 Rh血型抗体 47例, 检出率为 0.087%, 其中有妊娠史者 27例, 有输血史者 13例, 既有妊娠史又有输血史者 1例, 抗体来自母体的新生儿 6例; 抗体的特异性为: 抗-E 29例 (61.70%)、抗-D 8例 (17.02%)、抗-cE 5例 (10.64%)、抗-c 4例 (8.51%)、抗-C 1例 (2.13%); 47例 Rh血型抗体均为 IgG或 IgG + IgM类, 37⁻ 均可与具有相应抗原的红细胞反应, 抗体效价介于 1~4096。结论: 被检就诊者 Rh血型抗体的检出率低于白种人; 在检出的 Rh血型抗体中, 抗-E占绝对多数, 而抗-D的检出率呈逐步减少的趋势; 妊娠和输血引起的同种免疫是 Rh血型抗体产生的原因, 新生儿自母体被动获得的 Rh血型抗体是 Non-ABO-HDN最主要的致病抗体。

[关键词] Rh血型; 不规则抗体; 免疫溶血性输血反应; 新生儿溶血病; 微柱凝胶抗球蛋白试验

[中图分类号] R457.11 **[文献标识码]** A

Rh血型抗体是除 ABO血型系统以外最具临床意义的红细胞血型抗体, 常引起免疫溶血性输血反应 (HTR)及新生儿溶血病 (HDN), 调查 Rh血型抗体的检出率及特异性分布情况, 了解 Rh血型抗体产生的规律, 对预防 HTR及 HDN具有重要的临床意义。我们采用微柱凝胶抗球蛋白技术, 检测了 54 000例就诊者的红细胞血型不规则抗体, 共检出 Rh血型抗体 47例, 并对其产生的原因进行了调查分析。

1 材料和方法

1.1 材料 研究对象: 2004 - 05/2007 - 05, 在我院就诊的手术患者、需要或预备输血的非手术患者、孕妇、部分新生儿

收稿日期: 2007 - 08 - 13; 接受日期: 2007 - 10 - 25

基金项目: 东莞市科技计划资助项目 (2005199 - 70)

作者简介: 吴远军 (1970 -), 男, 湖北十堰人, 副主任技师

Tel: 0769-2233333-30318; E-mail: wuyuanjun199@163.com

及健康体检者共 54 000 例, 其中男 25 000 例, 女 29 000 例, 年龄 1 d~99 岁。仪器试剂: 微柱凝胶抗球蛋白卡及专用孵育器、离心机为长春博迅生物技术有限责任公司生产; 筛检红细胞、谱红细胞为上海市血液生物医药有限公司生产; 0.2 mol/L 2-Me(2-巯基乙醇)为本实验室配制; 单克隆抗-D、抗-C、抗-c、抗-E、抗-e为美国 DBL 公司生产。

1.2 方法

1.2.1 红细胞血型不规则抗体的筛查 被检者 EDTA·K₂ 抗凝血标本 3 mL, 3 000 r/min 离心 5 min 后, 采用微柱凝胶抗球蛋白技术, 使被检者血浆与筛检红细胞 (3 人份 O 型红细胞) 反应, 筛检红细胞血型不规则抗体。被检者血浆与 3 人份筛检红细胞中任何 1、2 人份或 3 人份有凝集者为阳性, 与 3 人份筛检红细胞均无凝集者为阴性。

1.2.2 红细胞血型不规则抗体的特异性鉴定 将红细胞血型不规则抗体筛查结果为阳性研究对象的血浆, 采用微柱凝胶抗球蛋白技术分别与由 10 人份 O 型红细胞组成的谱红细胞及自身红细胞 (均为 1%) 反应。与谱红细胞中 1 至数人份凝集, 与自身红细胞不凝集者为特异性抗体, 并根据与谱红细胞的反应格局判定抗体的特异性; 对鉴定为 Rh 血型抗体者, 采用单克隆抗-D、抗-C、抗-c、抗-E、抗-e 试剂检测 Rh 血型以确认所检抗体的准确性, 并询问孕产史、输血史, 如果为新生儿检测其母亲血浆中是否有相同特异性的抗体, 以分析抗体产生的原因。

1.2.3 Rh 血型抗体免疫球蛋白类型的鉴定 取检出 Rh 血型抗体者的血浆 0.2 mL 加入等量 0.2 mol/L 2-Me 后密封, 37 °C 孵育 30 min 后用生理盐水倍比稀释, 采用微柱凝胶抗球蛋白技术与具有相应 Rh 血型抗原的红细胞反应, 效价与 2-Me 处理前无变化者为 IgG 类抗体, 效价与 2-Me 处理前有所降低、但仍有反应者为 IgG+IgM 抗体, 2-Me 处理后与具有相应血型抗原的红细胞无反应者为 IgM 类抗体。

1.2.4 Rh 血型抗体 37 °C 反应性的鉴定 采用盐水法、试管间接抗球蛋白试验 2 种方法分别使被检者血浆与具有相应 Rh 血型抗原的红细胞反应, 只要其中任何一种方法在 37 °C 有凝集即可判断为 37 °C 有反应的抗体, 具有临床意义。

1.2.5 Rh 血型抗体效价测定 取检出 Rh 血型抗体者的血浆用生理盐水倍比稀释后, 采用微柱凝胶抗球蛋白试验, 与具有抗体对应的 Rh 血型抗原的红细胞反应以检测其效价。

1.2.6 检出 Rh 血型抗体的新生儿血型血清学试验 对检出 Rh 血型抗体的新生儿, 鉴定 Rh 血型、做红细胞直接抗球蛋白试验 (DAT) 及红细胞放散试验, 并鉴定放散液中的抗体及其特异性。

2 结果

2.1 Rh 血型抗体的检出率及在不同就诊人群中的分布 就诊者 54 000 例, 检出 Rh 血型抗体 47 例 (检出率为 0.087%), 其中男 13 例 (占被检男性 0.052%), 女 34 例 (占被检女性的 0.117%)。检出的 47 例 Rh 血型抗体阳性者中 41 例为成人

(占 87.234%), 6 例为出生 1 d 的新生儿 (占 12.766%)。41 例 Rh 血型抗体阳性成人中, 有妊娠史者 27 例 (占 57.447%), 其中孕妇 12 例 (占 25.532%); 有输血史者 13 例 (占 27.660%); 既有妊娠史又有输血史者 1 例 (占 2.128%)。6 例新生儿的抗体均来自母体, 其母亲均为以上检出 Rh 血型抗体的 12 例孕妇中的 6 例, 新生儿抗体特异性与其母亲抗体特异性完全一致, 新生儿红细胞直接抗球蛋白试验 (DAT) 及红细胞放散试验均为阳性, 符合 Non-ABO-HDN 诊断, 占同时期检出的 11 例 Non-ABO-HDN 患儿的 54.545%。12 例 Rh 血型抗体阳性的孕妇中除 6 例所产新生儿被诊断为 Non-ABO-HDN 外, 另有 2 例发生了宫内死胎, 其余 4 例孕妇 Rh 血型抗体效价均 ≤ 4 , 所产新生儿血浆中均未检出 Rh 血型抗体。除新生儿外, 既无妊娠史又无输血史者均未检出 Rh 血型抗体。

2.2 Rh 血型抗体的特异性分布 检出 47 例 Rh 血型抗体的特异性分布为: 抗-E 29 例 (61.702%)、抗-D 8 例 (17.021%)、抗-cE 5 例 (10.638%)、抗-c 4 例 (8.511%)、抗-C 1 例 (2.128%)。

2.3 Rh 血型抗体的效价、Ig 类型及 37 °C 反应性 检出的 47 例 Rh 血型抗体效价介于 1~4 096, 其中效价为 4 096 者 1 例 (抗-D), 效价为 2 048 者 2 例 (抗-D、抗-E 各 1 例), 效价为 256 者 1 例 (抗-D), 效价为 128 者 1 例 (抗-cE), 效价为 64 者 3 例 (均为抗-E), 效价为 32 者 5 例 (抗-D 1 例、抗-E 2 例、抗-cE 2 例), 效价介于 1~16 者 33 例 (抗-E 23 例、抗-D 4 例、抗-cE 2 例、抗-c 4 例、抗-C 1 例)。47 例 Rh 血型抗体均为 IgG 或 IgG+IgM, 在 37 °C 均可与具有相应抗原的红细胞反应。

3 讨论

Rh 血型系统是已发现的 29 个人类红细胞血型系统中最具遗传多态性的红细胞血型系统, 所表达的血型抗原多达 55 种^[1], 其中 Rh(D) 抗原性最强, 其次为 Rh(E)、Rh(C)、Rh(c)、Rh(e) 等, 因输血或妊娠等同种免疫易产生相应同种抗体, 再次 Rh 血型不相容输血或妊娠可引起严重的 HTR 及 HDN^[2]。在临床输血中 Rh 血型相容性的意义仅次于 ABO 血型, 而由于 Rh 血型抗原表位是多肽, 在胎儿出生时已发育成熟, 与相应的 IgG 抗体亲和力较强, 严重的 HDN 病例多由 Rh 血型抗体引起, 在 HDN 的发病方面, Rh 血型抗体较 ABO 血型抗体更为重要^[3]。因此, 调查 Rh 血型抗体的检出率及特异性分布情况, 了解 Rh 血型抗体产生的规律, 对预防 HTR 及 HDN 具有重要的临床意义。由于不同种族人群红细胞 Rh 血型遗传多态性决定了其抗原表型存在差异, 接受 Rh 血型抗原免疫的机率不同, Rh 血型抗体的检出频率及抗体特异性分布也存在人群及地区差异^[4]。白

种人 Rh(D)阴性频率较高, Rh血型抗体是最常见的红细胞血型不规则抗体, 检出频率高达 0.98%^[5], 而汉族人 Rh(D)阴性频率仅为 0.3%~0.6%, Rh血型抗体检出率低于抗 M 及抗 Le^a^[6]。本研究中 54 000 例就诊者 Rh 血型抗体的检出率仅为 0.087%, 远低于白种人。在 Rh 血型抗体中各特异性抗体所占比率, 白种人中不同的调查结果差异较大, 但抗 D 及抗 -E 都是最多见的 Rh 血型抗体^[5, 7], 而本研究中 Rh 血型抗体中各特异性抗体所占比率依次为: 抗 -E (61.70%)、抗 -D (17.02%)、抗 -cE (10.64%)、抗 -c (8.51%)、抗 -C (2.13%), 与白种人比较, 本研究中抗 -E 的比率较高, 抗 -D 的比率较低, 这可能是因为我国人群 Rh(E)阴性频率远高于 Rh(D)阴性频率, 受 Rh(E)同种免疫机率较高而又没有采取有针对性的预防措施^[8]。

输血和妊娠同种免疫是红细胞血型抗体产生的重要原因, 但 ABO 血型系统的抗体及 MNSs、Lewis P 血型系统中的部分抗体可在无明显同种异体抗原免疫的情况下产生^[6]。本研究中检出的 47 例 Rh 血型抗体中, 除 6 例新生儿抗体来自母体外, 41 例成人均有妊娠史或输血史, 抗体来自母体的 6 例 Rh-HDN 患儿占同期检出 Non-ABO-HDN 患儿的 54.55%, 而其他所有无妊娠史及输血史的被检者中均未检出 Rh 血型抗体, 表明妊娠和输血引起的同种免疫是 Rh 血型抗体产生的原因, 新生儿自母体被动获得的 Rh 血型抗体是 Non-ABO-HDN 最主要的致病抗体。

红细胞血型抗体的主要临床意义在于是否可引起 HTR 及 HDN, 只要 37 可与相应抗原反应的血型抗体 (IgM 类或 IgG 类) 都可引起 HTR, 而只有 37 可与相应抗原反应的 IgG 类抗体才可引起 HDN。本研究中采用微柱凝胶抗球蛋白技术检出的 47 例 Rh 血型抗体均为 IgG 类或 IgG 类 + IgM 类, 并且在 37 都可与相应抗原发生凝集反应, 表明所检出的 Rh 血型抗体均具有临床意义。除血型抗体的 Ig 类型及 37 反应性外, 红细胞血型抗体的效价与临床意义也密切相关, 抗体效价越高致敏红细胞的能力越强, 其导致 HTR 及 HDN 的程度也越严重, 本研究中检出 12 例孕妇血浆中有 Rh 血型抗体, 其中 2 例发生了宫内死胎, 分娩的新生儿有 6 例被证实其红细胞被来自母体的 Rh 血型抗体致敏, 其余 4 例红细胞未被抗体致敏的新生儿母亲血浆 Rh 血型抗体效价均 4。近年来的研究表明, 孕妇血浆中 Rh 血型抗体的 IgG

亚类与其导致的 HDN 的严重程度密切相关, 由 IgG1、IgG3 致敏红细胞后所致 HDN 的严重程度较 IgG2、IgG4 致敏红细胞后严重^[9]。因此对检出 Rh 血型抗体的孕妇, 进一步检测 IgG 抗体的效价及 IgG 亚类, 可为评估胎儿发生 HDN 的严重程度、制定合理的干预措施提供参考。

国内 1981~2000 年报道的 HTR 及 Non-ABO-HDN 病例中由抗 -D 引起的病例高达 48.38% (224/463)^[10], 而本研究抗 -D 只占检出 Rh 血型抗体的 17.02%, 这是因为近年来我国实行了 Rh(D)相容性输血, 绝大多数 Rh(D)阴性受血者都能接受 Rh(D)阴性血的输注, 因输血所致同种免疫性抗 -D 越来越少; 另一方面, 我国实行计划生育政策, 育龄妇女的平均妊娠次数减少也可能是 Rh 血型抗体检出率较低的原因之一。但值得重视的是, 随着抗 -D 检出率的逐渐减少, 抗 -E 已成为最多见的 Rh 血型抗体, 由抗 -E 致 HTR 及 HDN 的报道较多, 是否有必要同预防抗 -D 一样采用 Rh(E)相容输血有待研究。

参考文献:

- [1] Daniels GL, Carton JP, Fletcher A, et al. International society of blood transfusion committee on terminology for red cell surface antigens: Vancouver report[J]. *Vox Sang*, 2003, 84(3): 244-247.
- [2] 杨世明, 潘晓莉, 崔颖. Rh(D)抗原及 Rh 血型免疫性抗体检测的分析[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2004, 20(2): 封 3.
- [3] Marion ER, Ragnid O, Marsh WL. The clinical significance of alloantibodies of blood group system[J]. *Scand J Haematol*, 2000, 37(2): 197-203.
- [4] Lin M. Blood groups and transfusion medicine in Taiwan[J]. *J Formos Med Assoc*, 1997, 96(12): 933-942.
- [5] Jeffrey L, Winters AA, Pineda LD, et al. RBC alloantibody specificity and antigen potency in Olmsted county, Minnesota[J]. *Transfusion*, 2001, 41(11): 1413-1420.
- [6] 吴远军, 刘彦慧, 刘兴玲, 等. 汉族患者 (30 800 例) 及孕妇 (4 200 例) 红细胞血型不规则抗体分布的调查[J]. *第四军医大学学报*, 2007, 28(10): 922-925.
- [7] Ameen R, Al-Eyaadi O, Al-Shenmari S, et al. Frequency of red blood cell alloantibody in Kuwaiti population[J]. *Med Princ Pract*, 2005, 14(4): 230-234.
- [8] 吴远军, 刘兴玲, 刘彦慧, 等. 孕妇 IgG 类红细胞血型不规则抗体对早期诊断 Non-ABO-HDN 的意义[J]. *中国生物制品学杂志*, 2007, 20(6): 406-408.
- [9] Kumpel BM. In vitro functional activity of IgG1 and IgG3 polyclonal and monoclonal anti-D[J]. *Vox Sang*, 1997, 72(1): 45-51.
- [10] 陈忠, 张莉尼. 溶血性输血反应与非 ABO 新生儿溶血病不规则抗体的综合分析[J]. *临床检验杂志*, 2001, 19(6): 377-378.