抗-G 联合抗-D、抗-C 抗体导致交叉配血不合临床分析*

杨红梅[1]　郑皆炜[2]　向东[2]　沈伟[2]　许飞[1]　曹锁春[1]

［摘要］ **目的**：探讨交叉配血中抗-G 联合抗-D、抗-C 抗体引起配血不合的原因。**方法**：通过 ABO 血型鉴定、Rh 分型、直接抗人球蛋白试验、不规则抗体筛查、抗体特异性鉴定、吸收放散试验及抗体效价测定对患者配血不合进行分析。**结果**：对照细胞谱反应格局，患者血清中检出抗-D、抗-C 及抗-G 抗体。**结论**：患者血清中不规则抗体是导致交叉配血不合的主要原因。

［关键词］ 交叉配血；抗体筛查；抗-G 抗体；不规则抗体

doi：10.13201/j.issn.1004-2806-b.2019.12.004

［中图分类号］ R457.1　　［文献标志码］ A

Clinical analysis of incompatibility in blood crossmatching induced by anti-G, anti-D and anti-C antibodies

YANG Hongmei[1]　*ZHENG Jiewei*[2]　*XIANG Dong*[2]
SHEN Wei[2]　*XU Fei*[1]　*CAO Suochun*[1]

([1]Changzhou Blood Center, Changzhou, 213004, China; [2]Shanghai Blood Center)

Corresponding author: CAO Suochun, E-mail: 475738152@qq.com

Abstract　**Objective**: To investigate the reason of anti-G, anti-D combined with anti-C antibodies inducing incompatibility in blood crossmatching. **Method**: Through ABO blood typing, direct Coombs test, irregular antibody screening, absorption and elution and antibody titer determination experiments to determine and analyze the incompatibility in blood crossmatching failed for several times. **Result**: Anti-D, anti-C and anti-G antibodies were detected in the serum of patients according to the pattern of cell spectrum reaction. **Conclusion**: Irregular antibodies in the serum of patients might be an important cause of crossmatch discord.

Key words　crossmatching blood; antibody screening; anti-G antibodies; irregular antibodies

不规则抗体是指不符合 ABO 系统 Landsteiner 法则的抗体，包括非 ABO 血型系统抗体和 ABO 亚型抗体。它是引起 ABO 血型鉴定和配血困难的主要原因，而引起临床疑难交叉配血最常见的抗体是 Rh 血型系统的相关不规则抗体，该系统不规则抗体可单独存在，也可以联合抗体的形式存在。G 抗原是指有些人的红细胞对抗-C、抗-D、抗-E 抗体都不反应，但与抗-CD 血清发生阳性反应的一种独特 Rh 抗原。有 C 或 D 抗原的所有红细胞都有 G 抗原，由 G 抗原产生的抗体称为抗-G 抗体；一般是由 ccdee 个体产生。G 抗原存在于 RhD 和 RhC 蛋白上，是由外显子 2 编码，与第 2 个胞外环上的残基 Ser103 相关联。RhD 和 RhC 的 C 等位基因所

*基金项目：常州市卫计委指导性课题（No：WZ201729）；江苏省输血协会英科新创科研基金课题（No：JS2018037）

[1]常州市中心血站（江苏常州，213004）
[2]上海市血液中心
通信作者：曹锁春，E-mail：475738152@qq.com

[11] Jiang YN, Chen XY, Fan MY, et al. TRAIL facilitates cytokine expression and macrophage migration during hypoxia/reoxygenation via ER stress-dependent NF-κB pathway[J]. Mol Immunol, 2017, 82: 123－136.

[12] Shang ZX, Zhang LW. Digitoxin increases sensitivity of glioma stem cells to TRAIL-mediated apoptosis [J]. Neurosci Lett, 2017, 653: 19－24.

[13] Hao ZC, Han XJ, Sun X, et al. Fully human monoclonal antibodies to TRAIL-R1 enhance TRAIL-induced apoptosis via activation of caspase-8 pathway [J]. Biochem Bioph Res Co, 2016, 2: 238－244.

[14] Foroutan T, Farhadi A, Abroun S, et al. Adipose Derived Stem Cells Affect miR-145 and p53 Expressions of Co-Cultured Hematopoietic Stem Cells[J]. Cell J, 2018, 19: 654－659.

[15] Stefaniuk-Szmukier M, Ropka-Molik K, Piorkowska K, et al. Transcriptomic hallmarks of bone remodelling revealed by RNA-Seq profiling in blood of Arabian horses during racing training regime[J]. Gene, 2018, 676: 256－262.

[16] Wu X, Lv YG, Du YF, et al. Inhibitory effect of INT-777 on lipopolysaccharide-induced cognitive impairment, neuroinflammation, apoptosis, and synaptic dysfunction in mice[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2019, 88: 360－374.

（收稿日期：2019-06-02）

编码的 ser103 是 G 活性的关键，一般带有 D 和(或)C 红细胞均为 G 阳性，但并非所有的抗 DC 都包含抗 G，抗 G 表现为抗 CD，但是它不能被分离为抗 C 和抗 D，抗 G 显然是与 D 和 C 的一个共同部位。本案例通过吸收放散方法来判别是否存在抗-G 抗体，现将实验结果报道如下。

1　材料与方法

1.1　基本资料

患者，女，28 岁，B 型 Rh 阴性，血清抗体筛查阳性，因妊娠合并前次剖宫产择期手术，特配悬浮红细胞而送到上海市血液中心血型参比实验室进行相关检测。

1.2　试剂与仪器

抗-A/B 单克隆抗体(上海血液生物，批号：20171227)；抗-D(IgM)单克隆抗体(上海血液生物，批号：20171811)；抗-C 抗体(上海血液生物，批号：20183001)；抗-c 抗体(上海血液生物，批号：20183101)；抗-E 抗体(上海血液生物，批号：20183201)；抗-e 抗体(上海血液生物，批号：20183301)；ABO 血型反定型红细胞(上海血液生物，批号：20185332)；抗体筛选细胞(上海血液生物，批号：20187040)；国产谱细胞(上海血液生物，批号：20181123)；进口谱细胞(Sanquin，批号：8000252161)；OCD 单抗卡(强生公司，批号：IGC719A)；抗球蛋白试剂(上海血液生物，批号：20175002)；抗-IgG(上海血液生物，批号：20175102)；抗-C3d 试剂(上海血液生物，批号：20185201)；酸放散试剂(上海申型医学科技公司，20180422)；聚凝胺试剂(上海血液生物，批号：20187505)。

久保田 KA-2200 血清学专用离心机；37℃恒温水浴箱；卢湘仪 TD4 低速自动平衡离心机；OrthoBioVue system。

1.3　试管法鉴定

ABO 正反定型、Coombs 试验、抗体鉴定及交叉配血及微柱法进行抗体特异性鉴定及交叉配血。

2　结果

血型鉴定(试管法)ABO 正反定型结果见表 1，提示可能存在不规则抗体。

表 1　患者 ABO 正反定型结果

反应条件	抗-A	抗-B	Ac	Bc	Oc	自身细胞
IS	0	4+	4+	1+w	1+w	0
多次离心	0	4+	4+	1+w	1+w	0

抗体筛查(试管法)，血型鉴定结果提示有不规则抗体存在，进一步做不规则抗体筛查发现筛选 I、II、III 三系细胞在室温、37℃条件下，盐水介质、聚凝胺和抗人球蛋白介质中均有凝集结果见表 2，其中在 Poly 介质下的凝集强度达到 3+，提示该抗体对凝聚胺介质敏感。

鉴定抗体其特异性(试管法——抗人球蛋白和 Poly 介质)。

从筛选细胞格局中可以初步推断血清中存在抗-D 抗体，是否有其他抗体，需要进行谱细胞鉴定。国产谱细胞在抗人球蛋白和聚凝胺介质中 7、9 号呈阴性，不能排除抗 C、抗 E 抗体的存在(实验结果见表 3)。于是进一步做 Rh 抗原分型实验并用进口谱细胞进一步鉴别抗体特异性，实验结果见表 4 和 5。从进口谱分析出该患者血清检测抗-D、抗-C 抗体，至于是否存在抗-G 抗体需进一步吸收放散试验。

从抗体筛查和抗体鉴定 2 个试验结果只能说明患者血清中含有抗-D、抗-C 的特异性同种抗体。这时出现 5 种可能：①抗-D 合并抗-C；②抗-G 抗体；③抗-D 合并抗 G；④抗-C 合并抗 G；⑤抗-D、抗-G 和抗-C 混合存在。具体是 5 种情况的哪一种情况需要加做吸收放散试验。试验筛选 2 份 B 型 Ccdee 细胞与患者血清按照 1∶1 进行相应抗体吸收半小时(900031822889900/900031863336900)，此时用 C 细胞去吸收，理论上放散出来应该只有抗-C，而试验出现 4 号细胞阳性，表明放散中有抗-G 抗体；而血清中应该只有抗-D，而试验出现 5 号细胞阳性，表明血清有抗-C、抗-D 抗体，说明吸收不够完全，试验结果见表 6。

表 2　患者血清与抗筛细胞反应格局与结果(批号：20187040)

序号	Rh-hr					Kidd		MNSs				Duffy		Lewis		P	试验结果			
	D	C	E	c	e	Jk^a	Jk^b	M	N	S	s	Fy^a	Fy^b	Le^a	Le^b	P_1	IS	37℃ 3min	IAT(卡)	Poly
1	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	0	+	+	1+	±	3+	3+
2	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	1+	±	3+	3+
3	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	1+	±	3+	3+
自身对照																	0	0	0	0

注：IS：盐水介质立即离心，IAT：强生玻璃珠卡间接抗人球法。

表 3 患者血清与国产谱细胞反应格局与结果(批号:20181123)

序号	Rh-hr					Kidd		MNSs					Duffy		Diego		Kell		Lewis		P	试验结果		
	D	C	E	c	e	Jk^a	Jk^b	M	N	S	s	Mur	Fy^a	Fy^b	Di^a	Di^b	K	k	Le^a	Le^b	P_1	IS	IAT	Poly
1	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	1+	3+	3+
2	+	0	+	+	0	+	+	+	+	0	+	/	+	0	/	/	/	/	0	+	+	1+	3+	3+
3	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	/	0	/	+	/	+	1+	3+	3+
4	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	+	/	+	0	/	/	/	/	0	+	+	1+	3+	3+
5	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	1+	3+	3+
6	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	1+	3+	3+
7	0	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	/	+	+	/	/	/	/	+	+	0	0	0	0
8	+	+	+	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	/	/	/	/	+	+	+	1+	3+	3+
9	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	/	+	0	0	+	0	+	+	0	0	0	0	0
10	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	/	0	/	0	+	+	1+	3+	3+

表 4 患者血清与进口谱细胞反应格局与结果(sanquin,8000252161)

序号	Rh-hr						Kidd		Kell						Duffy		Lewis		P	MNSs				试验结果			
	C	D	E	c	e	C^w	Jk^a	Jk^b	K	k	Kp^a	Kp^b	Js^a	Js^b	Fy^a	Fy^b	Le^a	Le^b	P_1	M	N	S	s	IS	37℃3 min	Poly	IAT
1	+	+	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	1+	2+	$3+^s$	$3+^s$
2	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	1+	2+	$3+^s$	4+
3	0	+	+	+	0	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	1+	2+	$3+^s$	4+
4	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	+	0	+	0	+	1+	2+	3+	3+
5	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	0	+	/	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	3+	3+
6	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	/	+	+	+	+	0	+	+	0	0	+	0	0	0	0
7	0	0	0	+	+	0	+	+	+	0	0	+	/	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	0	0
8	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0
9	0	0	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	0	0	0	0
10	0	0	0	+	+	0	w	0	0	+	0	+	/	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0
11	+	+	+	0	+	0	0	+	+	+	0	+	/	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	±	1+	3+	$3+^s$
12	w	+	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	/	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	1+	2+	$2+^s$	3+
13	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	0
14	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	/	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	$1+^w$	2+	$2+^s$	$3+^s$
15	+	0	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	/	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	±	2+	3+
16	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	±	1+	2+	3+
Poly 阳对抗筛 3 号细胞±																				自身细胞				0	0	0	0

表 5 患者 Rh 抗原分型结果

反应条件	抗-C	抗-c	抗-E	抗-e	抗-D(IgM)	抗-D(IgG)	抗-D(IgM/IgG)
IS	0	3+	0	3+	0	0	0
阳性对照(S3)	2+		2+		1+	4+(卡)	4+(卡)

表 6 患者血清吸收放散试验(IAT 卡法)

反应条件	ccDee (4 号)	ccdee (7 号)	CCdee (5 号)
吸收后上清液	4+	0	4+
吸收后放散液	3+	0	2+
第 2 次吸收后上清液	3+	0	2+
第 2 次吸收后放散液	3+s	0	3+s

采用试管法对血清倍比稀释,血清 50 μL,第 2 管为血清 50 μL 与 50 μL 生理盐水混合液,将第 2 管中的 50 μL 混合液移置第 3 管,以此类推。效价所用细胞为 3 号(ccDEE)与 4 号(ccDee)细胞混合液;各管中加入量为 50 μL,整个体系为 100 μL,实验结果见表 7。说明存在 IgM 型抗-D 抗体,效价为 4。于是取 380 μL 血清加 20 μL 质控液,加 400 μL 2-Me 混合于 37℃水浴箱中破坏 10 min,去除 IgM 型抗体的干扰。测定效价实验前,先试管法加 4 滴破坏液和 1 滴(3/4)混合细胞,离心看结果为阴性,说明破坏完全。采用倍比稀释测定 IgG 抗体效价,准备两排试管标记号同时进行,第 1 管加破坏液为 100 μL,第 2 管破坏液为 50 μL,第 3 管破坏液为 50 μL+50 μL 生理盐水,以此类推每管倍比稀释,最后一管取 50 μL 溶液弃掉,第 1 排所用细胞为(3/4)混合细胞;第 2 排所用细胞为 15/16

混合细胞(Ccdee)。试验结果见表 7、8、9。表 8 效价结果为 256，测定抗体可能是抗 D 或者抗-D 联合抗-G。表 9 效价结果为 2，测定抗体可能是抗-C 或者抗-C 联合抗-G。

筛选一袋献血者条码为 900031890617200，B 型，RhD(－)，其他血型为 ccee 血样做主次侧交叉配血试验，均在盐水、聚凝胺、抗人球蛋白 3 种介质中无凝集、无溶血，可输注上述悬浮红细胞 2 单位。一个星期后追踪该患者，手术预后良好，输血效果良好。

表 7　患者血清在盐水介质中的效价结果

反应条件	1	2	4	8	16	32
IS	1＋	1＋^{w}	±	0	0	0

表 8　患者血清 IgG 效价结果(3/4 混合细胞 ccDEe)

反应条件	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
IS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IAT	4＋	3＋s	3＋	2＋s	2＋	1＋s	1＋	1＋w	±	0

表 9　患者血清 IgG 效价结果(15/16 混合细胞 Ccdee)

反应条件	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
IS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IAT	1＋w	±	±/0	0	0	0	0	0	0	0

3　讨论

临床上交叉配血不合的原因众多，在进行血液筛查的每个环节都可能导致配血不合。在输血前的血液检测中，不规则抗体筛选阳性是导致不合的常见现象。该患者的表型为 ccdee，这一部分的红细胞对抗-C、抗-D 及抗-E 都不起凝集反应。但对抗-C＋D 血清则发生阳性反应，这种抗原称 G 抗原，G 抗原的表达频率在黑人为 92%，欧洲高加索人为 84%，亚洲人几乎为 100%。有文献报道 27 例抗-D 联合抗-C 案例中 3 例是单纯抗-D＋抗-C 而无抗-G；其中 4 例为抗-G＋C；13 例是抗-D＋C＋G；7 例为抗-D＋ G，说明抗-G 混在存在的概率很高，这与 Skov 等[1]估算了在不同 Rh 表型红细胞上 G 抗原的位点数的结果是相辅相成的：DCe/DCe9900-12000；dCe/dCe8200-9700 DCE/DCE5400；DcE/DcE3600-5800； Dce/Dce4500-5300； DcE/dce4200。同时也证实了抗-G 大多数是和抗-D 或抗-D、抗-C 混合在一起，抗-G 抗体封闭了 C 和 D 位点，有时候还会封闭 e 位点，引起迟发型输血反应和新生儿溶血病并导致交叉配血不合。杰夫丹尼尔[2]提出抗-G 可用吸收放散方法分离，一种 2 次吸收放散的方法被证明是有效的，同时检测抗-G 抗体最理想的方法是间接抗人球蛋白试验或者酶法。本案例选择 B 型 Ccdee 细胞来吸收患者血清，通过吸收放散试验(热吸收酸放散)，用进口谱细胞分别鉴定吸收后的血清和红细胞放散液，本案例用 C＋D-细胞吸收后，发现血清与 C-D＋细胞呈阳性，与 C＋D-细胞呈阳性，血清中有抗-C＋G 抗体。放散液 C-D＋细胞呈阳性，与 C＋D-细胞呈阳性说明红细胞上吸附了抗-D＋C 抗体。结果显示患者血清中游离的抗-D 同时存在抗-C 特异性，与类似抗 C＋D(-G)[3-4]。但由于 C＋D-个体中有大于 10% 以上的 Rh 阴性属于 Del 型，因此建议做对比吸收放散试验，一组用 C＋D-细胞吸收，一组用 C-D＋细胞吸收，然后对比分析。随着分子遗传学的发展，相关案例均有报道，对于血清中检出抗-D＋C 抗体时，建议进一步鉴定是否存在抗-G 抗体。而建立稀有 Rh 血型抗-G 抗体鉴定方法，其关键必须筛选不同 Rh 血型抗原的红细胞与可疑的抗-G 抗体血清进行多吸收放散试验，才能鉴定出抗-G 抗体，寻找合适的血液，避免输血反应[5-6]。

(致谢：以上所有实验均在上海市血液中心血型参比实验室完成，感谢向东、沈伟、郑皆伟老师们的悉心指导。)

参考文献

[1]　Skov F，Hughes-Jones NC. Observations of the number of available C antigen sites on red cells[J]. Vox Sang，1977，33：170－174.

[2]　杰夫丹尼尔. 人类血型学[M]. 北京科学出版社，2007.

[3]　洪俊，华敏玉，姜健，等. 抗-G 引起 Rh(－)患者交叉配血不合 1 例[J]. 中国输血杂志，2008，21(12)：956－957.

[4]　范亮峰，向东，王健连，等. 抗-G 抗体引起 Rh(－)新生溶血病 1 例[J]. 临床输血与检验，2010，12(1)：82－84.

[5]　沈茜，唐志家，林成，等. Rh 血型抗-G 抗体的综合鉴定方法的建立及初步应用[J]. 临床输血与检验，2018，20(6)：646－648.

[6]　Hebert-Mages S，Lee-Stroka H，Langeberg A，et al. Anti-G presenting as a blood transfusion error[J]. Am J Hematol，2009，84：460－467.

(收稿日期：2019-05-31)