

Rh 系统简单特异性自身抗体血清学鉴定与分析

张刘仟¹ 马玲² 邵雷² 臧炫月¹ 尤建国¹

[摘要] 目的:通过 2 例 Rh 系统简单特异性自身抗-e 抗体案例的鉴定和分析,了解简单特异性自身抗体的血清学特征。方法:采用常规血清学方法对患者进行 ABO、Rh 表型分型,直接抗人球蛋白试验对患者血清及放散液中抗体进行检测;进一步采用不同表型细胞对患者血清吸收后进行抗体鉴定,并对吸收后细胞再次放散检测。结果:患者均为 e 抗原阳性,血清和放散液中表现出抗-e 抗体格局,该抗体只能被 e 抗原阳性细胞吸收,而不能被 e 抗原阴性细胞吸收。结论:该 2 例抗体为简单特异性自身抗 e 抗体,不能被 e 抗原阴性细胞吸收,与类抗体特征存在区别。

[关键词] 简单特异性自身抗体;抗体鉴定;抗-e

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2024.08.013

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Serological identification and analysis of simple Rh-specific autoantibodies

ZHANG Liuqian¹ MA Ling² SHAO Lei² ZANG Xuanyue¹ YOU Jianguo¹

(¹Department of Blood Transfusion, Hua'an First People's Hospital, Hua'an, 223300, China;

²Research Laboratory for Transfusion, Jiangsu Province Blood Center)

Corresponding author: YOU Jianguo, E-mail: youjg1968@163.com

Abstract Objective: To understand the serological characteristic of simple specific autoantibodies by studies of 2 patients who produced simple specific auto anti-e antibodies. **Methods:** ABO, Rh phenotyping, DAT and antibody identification were conducted by routine serological methods. Antibody identification was done using different phenotype RBCs with the eluting solution and absorbed serum. **Results:** Both 2 patients were e positive. The antibodies in serum and eluting solution were identified as anti-e which could not be absorbed by e negative RBCs. **Conclusion:** These two antibodies were simple specific auto anti-e. It cannot be absorbed by e negative RBCs which distinguish with mimicking antibody.

Key words simple specific antibody; antibody identification; anti-e antibody

临床输血前常规对患者开展不规则抗体筛查,可以降低免疫性因素导致的输血不良反应。当抗体表现出某一特异性时,则需对患者进行相应抗原的检测,以判断为同种抗体抑或自身抗体。若患者相应的抗原为阳性,则该抗体定义为自身抗体。自身抗体通常表现为泛素化特征,即与所有的细胞发生反应,难以判断出特异性。不过偶尔情况,自身抗体会表现出针对 Rh^[1-2]、Kidd^[3]、MNS^[4] 等系统某一抗原特异性,定义为简单特异性自身抗体。在这些自身抗体中,根据是否能被相应抗原阴性的细胞所吸收又可分为类似特异性抗体和真实特异性抗体^[5]。笔者在进修工作中遇到 2 例 Rh 系统简单特异性自身抗-e 抗体患者,具体报告如下。

1 资料与方法

1.1 病例简介

患者 1,男,89 岁,输血史不详,临床诊断重症

肺炎呼吸衰竭。入院检测血红蛋白 45 g/L,HCT 11.8%,直接抗人球蛋白试验(DAT)强阳性,间接抗人球蛋白试验(IAT)阳性。患者 2,男,70 岁,无输血史,临床诊断溃疡性结肠炎。入院检测申请单未体现,不规则抗体筛查阳性。2 例患者因交叉配血不合送至本实验室。

1.2 试剂与仪器

抗-A、抗-B(20210709),ABO 血型反定型红细胞(20235321),抗-D(20221804),抗人球蛋白(抗 IgG 和 C3d,20225001;抗 IgG,20225201;抗-C3d,20225101)、单克隆抗-C(20223002)、抗-c(20223102)、抗-E(20223203)和抗-e(20223302),均购于上海血液生物医药有限责任公司。抗体鉴定 16 系谱细胞(Sanquin,批号 8000459055),微柱凝胶卡(Diagnostic Grifols,SA)。细胞洗涤离心机(KUBOTA KA-2200),FYQ 型试剂卡孵育器,GRIFOLS 卡式离心机。

1.3 血清学方法

1.3.1 常规血清学试验 对患者进行血型检测,

¹淮安市第一人民医院输血科(江苏淮安,223300)

²江苏省血液中心输血研究室

通信作者:尤建国,E-mail:youjg1968@163.com

包括 ABO 正反定型、RhD 定型及 Rh 抗原分型试验以及 Coombs 试验,包括 DAT、IAT、抗体筛查及鉴定试验、效价测定、热放散试验,均按照输血技术操作规程^[6]或试剂说明书操作。

1.3.2 抗体性质鉴定 为进一步明确自身抗体性质,进行吸收放散试验。分别随机选择 O 型 Rhc-cDEE 及 RhCCDee 表型的献血者红细胞与患者血清进行吸收,为增强吸收效果,采用两种方式:①根据参考文献方法^[7],选择添加 Liss 的方法;②将吸收用细胞进行木瓜酶处理,将处理后细胞用于吸收试验。对吸收后的血清,再次进行抗体鉴定。同时将吸收后的细胞进行放散,并对放散液中抗体进行鉴定。

1.3.3 交叉配血试验 选择 e 抗原阴性(Rh 表型为 ccDEE)的供者红细胞,分别用盐水法及 IAT 进行交叉配血。

2 结果

2.1 常规血清学结果

患者 1 和 2 的 ABO 血型均为 AB 型,Rh 表型为 CCDee;DAT 结果为阳性,进一步分型发现,与抗 IgG 反应为阳性,与抗 C3d 反应为阴性,提示患者红细胞被 IgG 抗体致敏,未被 C3 补体致敏。见表 1。

2.2 抗体鉴定结果

在盐水介质(IS)患者血清与谱细胞反应均为阴性,在抗人球蛋白介质(IAT)与除 3、6 号以外的其他谱细胞均凝集,反应格局提示为抗 e 抗体;自身对照为阳性。患者细胞直接进行热放散,鉴定放散液中抗体,格局与抗筛结果一致,同样提示为抗-e 抗体,见表 2。选取 CCDee 表型细胞进行抗-e 效价测定,患者 1 和患者 2 抗-e 效价分别为 16 和 2,见表 2。

表 1 患者血型及 DAT 结果

患者	正定型		反定型			Rh 血型					DAT	
	抗-A	抗-B	A1c	Bc	Oc	抗-D	抗-C	抗-c	抗-E	抗-e	抗-IgG	抗-C3d
患者 1	4+	4+	0	0	0	3+	3+	0	0	4+	3+	0
患者 2	4+	4+	0	0	0	4+	3+	0	0	3+	3+	0

表 2 抗体鉴定结果

序号	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd	
	C	D	E	c	e	C ^w	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b
1	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	/	+	+	0	+	0
2	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	/	+	0	+	+	+
3	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0
4	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0
5	+	0	0	0	+	0	0	+	0	+	/	+	+	+	+	+
6	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	/	+	+	0	+	+
7	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	/	+	0	+	+	+
8	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+
9	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0
10	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	/	+	+	0	w	0
11	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	/	+	+	+	0	+

序号	Lewis		P	MNS				Luther		Xg	患者 1			患者 2		
	Le ^a	Le ^b	Pl	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg ^a	IS	IAT	放散液	IS	IAT	放散液
1	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	1+	3+ ^s	0	1+ ^w	2+
2	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	1+	3+ ^s	0	1+ ^w	2+
3	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0
4	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	±	3+ ^s	0	±	2+ ^s
5	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	1+	3+ ^s	0	1+	2+
6	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	0	0	0	0	0
7	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	1+	3+ ^s	0	±	1+
8	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	1+	3+ ^s	0	±	2+ ^w
9	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	1+	3+ ^s	0	±	1+
10	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	1+ ^w	3+ ^s	0	±	2+ ^w
11	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	1+ ^w	3+ ^s	0	±	1+ ^s
自 c											0	4+ ^w	/	0	2+ ^s	/

2.3 抗体性质鉴定

选择 O 型 Rh 表型为 ccDEE 红细胞在低离子介质进行吸收,共计 2 次。对比吸收前后血浆抗筛结果,发现无明显变化,仍表现出抗 e 格局。将吸收后的细胞进行放散,检测放散液中抗体,结果为阴性,未检出抗体。采用酶处理 ccDEE 型红细胞重新进行吸收,以增强吸收效果,同样发现吸收后

血浆无明显变化。上述试验表明该抗体不能被 ccDEE 表型红细胞吸收。另选择 O 型 Rh 表型为 CCDee 红细胞进行低离子介质吸收,共计两次,对吸收后血浆进行抗筛,发现抗筛为阴性。将吸收用红细胞再次进行放散,表现出抗 e 格局。上述试验表明该抗体可以被 CCDee 红细胞吸收,并能被放散下来,见表 3。

表 3 吸收放散结果

序号	Rh-hr						ccDEE 细胞吸收		酶处理 ccDEE 细胞吸收		CCDee 细胞吸收	
	C	D	E	c	e	C ^w	吸收后血清	放散液	吸收后血清	放散液	吸收后血清	放散液
1	+	+	0	0	+	+	+	0	+		0	+
2	+	+	0	0	+	0	+	0	+		0	+
3	0	+	+	+	0	0	0	0	0		0	0
6	0	0	+	+	0	0	0	0	0		0	0

注:挑选谱细胞中 e 抗原阳性(1 号、2 号)及阴性(3 号、6 号)的细胞各 2 例进行抗体鉴定。

2.4 交叉配血

筛选 RhccDEE 表型(e 抗原阴性)的供者红细胞进行交叉配血试验,主侧在盐水、经典抗人球蛋白法均无溶血无凝集;镜检弱凝集,且凝集强度均比自身弱。因输注洗涤红细胞,未进行次侧配血。

3 讨论

温自身抗体有时会表现出 Rh 系统抗体特性,其中最常见的是抗 e,偶尔也会表现出抗 c、抗 E、抗 D 和抗 C 的特征^[8-10]。根据该自身抗体是否可被相应抗原阴性的红细胞吸收分成两类,不被相应抗原阴性细胞吸收的称为真实特异性自身抗体,能被相应抗原阴性细胞吸收的称为类抗体^[5]。Issitt 等^[11]研究发现,在 48 例具有简单 Rh 特异性(抗 e、抗 E、抗 c、抗 D、抗 C、抗 Ce、抗 G)的自身抗体中,有 14 例(29.2%)不被相应抗原缺失的细胞所吸收;有 34 例(70.8%)可以与缺乏相应抗原的细胞所结合。该简单特异性自身抗体属于自身抗体范畴,即产生的抗体针对自身抗原,与同种抗体(产生的抗体所对应的抗原是自身不具备的)具有本质区别。

Rh 系统的简单特异性自身抗体的发现方式主要有 2 种^[11],最简单的是在抗体鉴定和后续放散试验中直接鉴别出来。本文中研究的 2 个病例即属于此种情况,抗体筛查及放散液格局明确,提示为抗 e 抗体;通过后续吸收放散试验得到进一步验证。更常见的情况是,抗筛或放散液与正常 Rh 表型(即不包括罕见 Rhnull、-D-表型)的红细胞样本全部反应,放散液中含有对应 nl、pdl 或 dl 的一种或多种单一 Rh 系统抗原的自身抗体(备注:nl 指 not deleted,即正常 Rh 表型,不包括 Rhnull、-D-表型;pdl 指 partially deleted,即正常 Rh 表型以及部分缺失表型,例-D-、De-、DCw-等,不包括 Rhnull 型;dl 指所有 Rh 表型,包括 Rhnull 型)。进一步采用 R1R1、R2R2 和 rr 表型红细胞进行吸收放散试验,可分离不同类型抗体,明确抗体格局^[11]。

类抗体最初由 Issitt 等^[12]于 1977 年报道,采用了“mimicking antibody”这一名称,但这一现象早在 1958 年即有发现^[13]。类抗体属于自身抗体的范畴,自身可具备或不具备抗体对应的抗原,其本质特征在于可以被相应抗原阴性的细胞所吸收,当然也可被相应抗原阳性的细胞所吸收,此类抗体国内已有不少报道^[14-18]。目前对于类抗体的认识可能存在误区,当患者产生的抗体有较为明确的格局而患者相应抗原为阴性时,会误认为产生了同种抗体或者同种抗体合并了自身抗体。而当患者相应抗原为阳性时,会简单认为产生了类抗体,有些并没有进行相应抗原阴性细胞的吸收放散试验;但如果后续试验发现不被相应抗原阴性的细胞所吸收时,又会造成认知上困惑。对于相关抗体的概念及鉴别方法有待于进一步加强认识及厘清。

对于临床而言,更为关心的是患者的治疗策略及输血方案选择。对于产生自身抗体的贫血患者,如果必须要输血治疗,最应明确有无同种抗体产生,是否被自身抗体所掩盖。当排除同种抗体范畴,仅对于自身抗体而言,如果自身抗体表现出某个血型抗原特异性时,目前绝大多数观点是选择相应抗原阴性的血液^[19-25]。当自身抗体和同种抗体同时存在而无法做到同时避开 2 种特异性抗体输血时,应优先考虑同种抗体。本文中 2 例患者只发现简单特异性自身抗 e 抗体,未发现其他同种抗体存在,因此均选择 e 抗原阴性的血液进行输注,经反馈未发现患者输注后存在不良反应,在笔者进修期间 2 例患者仅输血一次,如后期再向本实验室申请输血,可进行后续补充试验,继续关注自身抗体的格局及效价变化,以及是否产生同种抗体,以求更好地为此类患者提供输血服务,保证输血安全。

(致谢:感谢湖州市中心血站周建华老师对本文中吸收放散试验的指导!)

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 邹昕,马思飞,杨红梅,等. 同种抗-C、e 伴类同种抗-e、Jk~b 自身抗体的鉴定及输血治疗[J]. 中国输血杂志, 2024, 37(2): 214-218, 237.
- [2] 雷航,王中英,谢军华,等. 同种特异性自身抗体的血清学特点分析及输血策略的探讨[J]. 诊断学理论与实践, 2023, 22(5): 466-471.
- [3] Gupta A, Pokhrel A, Sachdeva P, et al. Rare case of Auto immune haemolytic anaemia in an infant with auto "f & Kidd antibodies"[J]. Transfus Apher Sci, 2020, 59(4): 102762.
- [4] 黄嫫,李彤彤,解金辉. 1 例健康 MN 血型的产妇检出类抗-N 抗体的研究[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(1): 142-144.
- [5] 孙国栋,向东. 直接抗球蛋白试验阳性患者体内温自身抗体特异性[J]. 中国输血杂志, 2001, 14(6): 397-399.
- [6] 李勇,马学严. 实用血液免疫学:血型理论和实验技术[M]. 北京:科学出版社, 2006: 462.
- [7] 周建华,施旭斌,孙泉. 抗-C、e 同种抗体合并抗-e 类同种自身抗体的鉴定及交叉配血[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(7): 843-846.
- [8] 张静,王素玲,乔芳,等. 自身免疫性溶血性贫血患者抗-LW 抗体和自身抗-D 抗体鉴定及输血策略[J]. 临床血液学杂志, 2022, 35(10): 748-751.
- [9] Agrawal S, Chowdhry M, Gajullupalli SP, et al. Autoantibodies mimicking alloantibodies: a case series unveiling the dilemmas of transfusion[J]. Asian J Transfus Sci, 2023, 17(1): 58-62.
- [10] Geoff Daniels. Human Blood Groups[M]. 3rd ed. Chichester: John Wiley & Sons, Ltd, 2013: 232.
- [11] Issitt PD, Pavone BG. Critical re-examination of the specificity of auto-anti-Rh antibodies in patients with a positive direct antiglobulin test[J]. Br J Haematol, 1978, 38(1): 63-74.
- [12] Issitt PD, Zellner DC, Rolih SD, et al. Autoantibodies mimicking alloantibodies[J]. Transfusion, 1977, 17(6): 531-538.
- [13] Fundenberg HH, Rosenfield RE, Wasserman LR. Unusual specificity of auto-antibody in auto-immune hemolytic diseases[J]. J Mt Sinai Hosp N Y, 1958, 25(4): 324-329.
- [14] 封彦楠,马春娅,杨鑫,等. 类同种自身抗体患者血清学特点及抗体分布回顾性分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(4): 1301-1307.
- [15] 范亮峰,叶珍,刘曦,等. 类抗-E 自身抗体的分析与研究 1 例[J]. 中国输血杂志, 2017, 30(12): 1408-1410.
- [16] 周建华,查荣宝,陈义柱. IgG 自身抗-e 鉴定及交叉配血 1 例[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(11): 996-997.
- [17] 田亚娟,乔芳,王素玲,等. 类抗 E 自身抗体的鉴定分析及输血策略探讨[J]. 临床血液学杂志, 2024, 37(6): 419-422, 428.
- [18] 周雪莹,陈宣宇,于笑难. 同种抗体合并模拟同种特异性自身抗体血清学特点分析及配血对策[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(11): 1178-1181.
- [19] Claudia S. Cohn. 美国血库协会技术手册 20 版[M]. 桂嵘,译. 长沙:中南大学出版社, 2022: 312.
- [20] Hsieh HY, Moroney D, Naumann D, et al. Warm autoimmune hemolytic anemia with mimicking anti-c and-E specificities[J]. Immunohematology, 2002, 18(1): 19-22.
- [21] Dwyre DM, Clapper A, Heintz M, et al. A red blood cell autoantibody with mimicking anti-E specificity[J]. Transfusion, 2004, 44(9): 1287-1292.
- [22] 赵嫚,马春娅,台胜飞,等. 产生类抗体的自身免疫性溶血性贫血患者的输血对策[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(8): 779-782.
- [23] 丁琴丽,陈宝龙,邱芳. 产生类抗体的自身免疫性溶血性贫血患者的输血选择[J]. 中国实验血液学杂志, 2017, 25(4): 1208-1211.
- [24] 邢昕,许金鹏,王爱华. 类同种特异性自身抗体的鉴定及输血处理 1 例[J]. 实用医药杂志, 2019, 36(11): 1012-1013, 1021.
- [25] 苏承丹,杨静,练棚辉等. 类抗 Ce 自身抗体的分析与研究一例[J]. 临床检验学杂志(电子版), 2020, 9(3): 527-528.
- (收稿日期: 2023-10-13 修回日期: 2024-06-26)
-
- (上接第 585 页)
- [16] 刘泽民,陈少彬,陈庆恺,等. 2 种检测模式及不同献血次数对献血者血液 HIV 项目检测后残余风险的影响[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(6): 585-587.
- [17] 颜秀娟,陆祝选,邱昌文,等. 核酸检测技术应用于血清学筛查合格的献血者标本检测[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(12): 1322-1324.
- [18] 王妙玉,傅立强. 绍兴地区 2017—2020 年无偿献血者归队情况分析[J]. 全科医学临床与教育, 2022, 20(5): 448-450.
- [19] 程卫芳,周学勇,张云,等. ELISA 单试剂不合格献血者归队可行性分析[J]. 中国输血杂志, 2019, 32(1): 55-57.
- [20] 吴嫫,周军兵,姜蓓蓓. 盐城地区无偿献血者 HIV 检测与归队情况分析[J]. 基层医学论坛, 2022, 8(25): 72-74.
- [21] 李慧东,张俊玲,吴南,等. 呼和浩特市单试剂反应性无偿献血者的归队情况分析[J]. 中国输血杂志, 2023, 36(7): 626-629.
- [22] 张伟芳,吴蓉,施冬梅,等. 基于归队原因分析献血者酶免单试剂反应性或灰区的追踪结果[J]. 国际检验医学杂志, 2021, 42(15): 1843-1846, 1852.
- [23] 袁文声,李乔,吴泳伦. 献血者归队响应影响因素分析与对策[J]. 实验与检验医学, 2021, 7(6): 1630-1632.
- [24] 石洁,贾露,徐安琪,等. 南京地区反应性献血者归队情况分析[J]. 临床血液学杂志, 2019, 32(8): 620-621.
- (收稿日期: 2023-12-29)