

HPA 临床意义专刊-FNAIT

2021 年 5 月

编者导读:

胎儿及新生儿同种免疫性血小板减少症 (fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia, FNAIT), 或称胎母同种免疫性血小板减少症 (FMAIT), 因多数患者在出生后才被诊断, 故也称为新生儿同种免疫性血小板减少症 (NAIT)。FNAIT 是由于胎儿与其母体血小板抗原不相容, 来自母体的 IgG 同种免疫性血小板抗体进入胎儿体内致敏胎儿血小板后, 使致敏血小板在网状内皮系统被巨噬细胞吞噬, 从而导致患儿血小板减少。已报道的 FNAIT 病例大多由 HPA 抗体引起, 已证实有 HPA-1 (a, b), HPA-2 (a, b), HPA-3 (a, b), HPA-4 (a, b), HPA-5 (a, b), HPA-8bw, HPA-9bw, HPA-12bw, HPA-13bw, HPA-14bw, HPA-15b, HPA-21bw 可以引起 FNAIT。

HPA 基因分型在 FNAIT 中的应用:

(1) 产前诊断: 首先明确孕妇或其姐妹有无分娩过 FNAIT 的新生儿, 或者本次妊娠超声是否提示胎儿存在出血表现等高危因素, 特别是颅内出血; 若存在上述情况, 高度怀疑 FNAIT。在此基础上, 首先对母亲、父亲和胎儿进行 HPA 分型, 分析母亲与胎儿是否存在 HPA 不相容; 若夫妻双方血小板分型不合或母儿分型不合, 则继续对母体内的血小板抗体进行检测, 若血小板抗体阳性, 则确诊 FNAIT。

如果父亲的 HPA 基因型是杂合的, 或无法获得父亲 HPA 基因型, 则需要对胎儿 HPA 基因分型, 包括有创和无创两种方法。有创: 在妊娠 16 周左右做羊膜穿刺术检测胎儿 HPA 状态。羊膜穿刺术有 0.5-1.0% 的流产风险, 且可能刺激抗 HPA 产生。无创: 虽然通过细胞游离 DNA (cfDNA) 对最常见的胎儿血小板抗原 (HPA-1a) 进行基因分型已经有报道, 但该技术尚未广泛作为常规临床服务。

(2) 产后诊断: 诊断 FNAIT 时需要孕妇血清中的抗-HPA 抗体进行鉴定, 并对母子之间的 HPA 抗原是否相容进行分析。有条件的医院可以应用分子生物学技术进一步对患儿及其父母进行 HLA 及 HPA 基因分型检测, 根据相应的抗原进行抗体特异性分析, 以明确病因及指导临床治疗。

(3) 血小板输注治疗: 通过 HPA 基因定型寻找适合的供体血小板。

本月期刊检索了国内外公开报导的 FNAIT 相关多篇优秀文献, 就 HPA 抗体导致 FNAIT 中国病例报道、无创胎儿 HPA 基因分型方法等进行归纳汇总, 以便阅读, 在此郑重感谢所有文章作者所做出的努力及贡献。编者仅为收录方便学习, 无观点诱导及评判, 亦无商业目的。

共计 17 篇文献, 主要内容如下:

1-3 关于 FNAIT 研究进展、产科管理的综述和指南

4 皖北地区 1025 例孕妇血小板抗体筛查鉴定, 对抗 HPA 阳性样本进行 HPA 基因分型。得出结论: 在皖北地区人群中致 FNAIT 发生的致病抗体可能为抗-HPA-5b 抗体。

5-12 母胎 HPA 不合导致 FNAIT 中国病例报道: HPA-3a 8 例 (5-9), HPA-3b 1 例 (9), HPA-5b 2 例 (9-10), HPA-15b 1 例 (11), HPA-21bw 1 例 (12)。

13-15 无创胎儿 HPA 基因分型方法

16-17 FNAIT 的机理研究 (HPA 相关)

目录

1 《胎儿及新生儿同种免疫性血小板减少症研究进展》	3
2 《Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Prenatal Management of Pregnancies at Risk of Fetal Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia (FNAIT) : Scientific Impact Paper No. 61》	6
3 《胎儿同种免疫性血小板减少症的产科管理进展》	8
4 《皖北地区 1025 例孕妇抗-HPA 抗体的初步研究》	9
5 《胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症的诊断—附 1 例并文献复习》	11
6 《Timely diagnosis and treatment of neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by anti HPA-3a antibody: A case report》	12
7 《抗 HPA-3a 抗体所致 NAITP 一例并文献复习》	13
8 《第 2 胎抗 HPA-3a 抗体可使 NAIT 患儿病情加重》	14
9 《父母血小板血型不合引起 NAIT 的初步研究》	15
10 《国内首例抗 HPA-5b 引发的 NAITP 的检测、诊断及分析》	17
11 《母婴血小板血型不合致新生儿血小板减少症的试验诊断》	18
12 《1 例新生儿血小板减少症患者发现 HPA-21bw 等位基因报告》	20
13 《Noninvasive prenatal diagnosis by cell-free DNA screening for fetomaternal HPA-1a platelet incompatibility》	21
14 《Prediction of fetal blood group and platelet antigens from maternal plasma using next-generation sequencing》	21
15 《A new efficient tool for non-invasive diagnosis of fetomaternal platelet antigen incompatibility》	22
16 《Antiendothelial $\alpha\beta 3$ Antibodies Are a Major Cause of Intracranial Bleeding in Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia》	23
17 《Glycosylation pattern of anti-platelet IgG is stable during pregnancy and predicts clinical outcome in alloimmune thrombocytopenia》	23

HPA 临床意义专刊-FNAIT

(编辑: 艾丽萍, 张悦, 陈悦妍)

1 《胎儿及新生儿同种免疫性血小板减少症研究进展》

作者: 吴远军 隗伏冰 张咏梅 代炳梅 杨勇

来源: 中华围产医学杂志 2020 年 5 月第 23 卷第 5 期

摘要: 胎儿及新生儿同种免疫性血小板减少症 (fetal and neonatal alloimmune thrombocytopenia, FNAIT) 是因孕妇同种免疫性血小板抗体进入胎儿体内致敏胎儿血小板后, 使致敏血小板在网状内皮系统被巨噬细胞吞噬, 从而导致患儿血小板减少, 严重病例可发生颅内出血甚至胎死宫内。本文综述了国内外近年来在妊娠相关血小板同种免疫机制、FNAIT 的血小板破坏机制、抗血管生成作用与颅内出血的相关性、抗-GPIIb/IIIa 与流产的相关性, 以及 FNAIT 的诊断、治疗、预防方面的最新研究进展。

胎儿及新生儿同种免疫性血小板减少症 (FNAIT) 是由于胎儿与其母体血小板抗原不相容, 来自母体的 IgG 血小板抗体作用于胎儿血小板引起血小板破坏的同种免疫性疾病。FNAIT 的主要风险是胎死宫内和颅内出血 (ICH), 是活产新生儿严重血小板减少症的最常见原因, 估计发病率为 0.05%~0.15%。FNAIT 导致的胎儿死亡率尚不明确, 胎死宫内和 ICH 最早可能发生于胎儿第 14~16 周。一项来自全球 9 个国家的 13 个转诊中心的数据显示, FNAIT 活产新生儿 ICH 的发生率为 7.26%, 在发生 ICH 的 FNAIT 活产儿中, 53.49% 的病例在妊娠 28 周之前即已发生了 ICH, 62.79% 的病例为第 1 胎, 34.88% 的病例在生后 4d 内死亡, 53.49% 的病例出现了严重的神经系统后遗症, 只有 11.63% 的病例健康存活。第 1 胎发生 FNAIT 的孕妇, 其随后妊娠的血小板抗体靶向抗原阳性的胎儿发生 FNAIT 的概率接近 100%, 且血小板减少症的严重程度与前次妊娠相同或更严重。

一、FNAIT 的病理生理

1. 人类血小板同种抗原: 人类血小板携带的抗原分为 2 大类: 一类是与其他细胞或组织共有的抗原, 包括 ABH、Ii、P 等红细胞抗原, 以及人类白细胞抗原 (HLA) - I 类抗原和血小板糖蛋白 4 (CD36); 另一类为血小板特异性抗原, 即人类血小板抗原 (HPA)。现已命名的 HPA 有 35 种, 分别位于 6 种不同的血小板表面蛋白 (整联蛋白 β 3、 α IIb、 α 2; 糖蛋白 GPIIb/IIIa、GPIb/IX、CD109) 上, 包括 6 个系统中的 12 个抗原 (HPA-1a、HPA-1b、HPA-2a、HPA-2b、HPA-3a、HPA-3b、HPA-4a、HPA-4b、HPA-5a、HPA-5b、HPA-15a、HPA-15b) 和 23 个未发现等位基因的抗原 (HPA-6bw 至 HPA-14bw 和 HPA-16bw 至 HPA-29bw)。携带 HPA 的血小板膜糖蛋白主要有 3 种类型: (1) 富含亮氨酸的糖蛋白携带 HPA-2 (GPIIb/IIIa) 和 HPA-12bw (GPIb/IX) 抗原; (2) CD109 蛋白携带 HPA-15 抗原; (3) 其他 HPA 均位于整联蛋白上, 其中超过一半位于整联蛋白 β 3 亚基上。

2. 妊娠相关血小板同种免疫机制: (1) 妊娠相关血小板同种免疫途径: 孕妇曾经输注血小板抗原不相容异体血液, 既往或本次妊娠均可免疫其产生血小板抗体, 但母体被胎儿血小板抗原免疫的确切机制还不甚明确。除胎儿-子宫出血进入母体的血小板抗原外, 推测母体免疫系统与携带胎儿血小板抗原的滋养细胞或滋养层微粒之间的相互作用可能与血小板同种免疫相关, 母体免疫系统识别这些抗原后, 抗原呈递细胞将抗原肽加载到其人类主要组织相容性复合体 (MHC) II 类分子上, 并将 MHC-肽复合物呈递给 CD4+T 辅助细胞上的受体, 继而, 这些 T 辅助细胞增殖并释放促进 B 细胞分化、增殖和抗体产生的细胞因子, 使 B 细胞产生同种免疫性血小板抗体。

(2) MHC II 类分子与 HPA 免疫的相关性: 携带 HLA DRB3*01:01 基因的女性与 HLA DRB3*01:01 阴性女性相比, 被 HPA-1a 免疫的风险高 25 倍。其原因为抗原呈递细胞能够将 HPA-1a 表位抗原肽通过携带 HLA DRB3*01:01 等位基因编码的 HLA 分子有效地呈递给 T 辅助细胞。在缺乏 HLA DRB3*01:01 分子的女性中, 抗原肽与其他不太合适的 HLA II 类分子结合, 而不会有效地触发 T 辅助细胞。检测 HLA DRB3*01:01 基因对评估 HPA-1a 阴性女性被 HPA-1a 免疫的风险及其 HPA-1a 阳性的胎儿发生 FNAIT 的风险具有重要意义, 但 HLA DRB3*01:01 基因与 FNAIT 的相关性并不表现为剂量效应, HLA DRB3*01:01 基因纯、杂合子都不能预测 FNAIT 的严重程度。(3) Fc 受体在母体 IgG 抗体向胎儿转移中的作用: 胎儿 MHC I 类相关 Fc 受体与不同 IgG 亚型之间的亲和力可能影响母体 IgG 同种抗体通过胎盘转运至胎儿体内, 对 IgG1、IgG2b、IgG3 同种抗体的胎盘转运是必不可少的。

3. FNAIT 的抗体特异性: 已报道的 FNAIT 病例大多由 HPA 抗体引起。在高加索人群中, 有妊娠史的女性检出的血小板抗体 75%~85% 为抗-HPA-1a, 其次为抗-HPA-5a。美国一项针对 1162 例 FNAIT 新生儿的调查显示,

导致 FNAIT 的特异性抗体主要是抗-HPA-1a (占确诊 FNAIT 病例的 79%), 其次为抗-HPA-5b、抗-HPA1b 和抗-HPA-3a。HPA-1 位于整联蛋白 $\beta 3$ 亚基上, 多态性在亚洲人群和非洲人群中相对罕见。在日本, FNAIT 最常见的抗体是抗-HPA-5b, 其次是抗-HPA-4b。由抗-HPA-1a 引起的 FNAIT 发生 ICH 的胎儿宫内死亡的发生率高达 59%, 抗-HPA-3a 引起的 FNAIT 病情也很严重, 且可能导致流产, 抗-HPA-2a 引起的 FNAIT 病例报道较少, 而抗-HPA-5a 导致的 FNAIT 病情一般不太严重。

血小板与其他细胞或组织共有抗原的抗体也可引起 FNAIT。4%~8%的亚洲人血小板 CD36 阴性, 且在亚洲和非洲人群中均报告了抗-CD36 介导的 FNAIT。抗-HLA 抗体是同种异体血小板输注无效最重要的免疫因素。报道显示, 通过捐赠的卵母细胞体外受精的双胎妊娠孕妇, 在没有产生抗-HPA 的情况下产生了高水平的抗-HLA, 并引起胎儿严重血小板减少症和 ICH。然而, 由于 HLA 抗原在胎儿细胞和组织中广泛表达且对血小板的特异性较低, 抗-HLA 在 FNAIT 中的作用有待进一步研究。

ABO 血型抗原在血小板上的表达较弱, 通常认为 ABO 血型相容与不相容血小板输注的疗效没有显著差异, 据此推测母-胎 ABO 血型不相容不会引起严重的 FNAIT。但近年来日本报道了 1 例 O 型妇女, 第 1 胎新生儿患有严重的 FNAIT, 生后 10d 因 ICH 死亡, 明确致病的抗体为抗-A; 其在 40 岁第 2 次妊娠时, 血浆中的抗-A 效价达 2048~4096, 于妊娠第 7 周开始使用泼尼松, 妊娠 29 周时静脉注射免疫球蛋白 (IVIG) 每周 1.0g/kg, 至妊娠 33 周时剖宫产终止妊娠, 新生儿血浆中抗-A 效价为 4, 母体血清与父亲血小板交叉匹配不相合, 新生儿没有发生严重的 FNAIT。该病例提示, 孕妇高效价的 ABO 血型抗体也可能引起严重的 FNAIT。但母-胎不相容红细胞血型抗体与 FNAIT 的相关性目前尚未检索到其他研究报道。

中国汉族人与高加索人 HPA-1 和 HPA-5 抗原分布差异较大, FNAIT 的抗体特异性可能亦有明显差异。由于我国对 FNAIT 重视不足, 大多数医疗机构不具备 FNAIT 实验诊断条件, 目前报道的国内 FNAIT 病例较少。小样本研究显示, 复发性流产患者 HLA 及 HPA 抗体的表达情况与欧美人群存在显著差异。国内曾报道了 2 例严重 FNAIT 病例, 致病抗体分别为抗-HPA-3a 和抗-HPA-5b, 这 2 个抗体在欧美人群中不是最多见的 HPA 抗体。还有研究报道了由抗-CD36 引起反复自然流产的病例, 这在欧美人群中更为罕见。

4. FNAIT 的血小板破坏机制: 目前认为 FNAIT 血小板破坏和清除的机制是来自母体的 IgG 同种抗体通过 Fab 部分与血小板抗原结合, 通过 Fc 与巨噬细胞 Fc 受体连接, 从而使致敏的血小板被巨噬细胞吞噬。不同 IgG 亚型的 Fc 部分与巨噬细胞上不同 Fc 受体的相互作用不同, 从而调节脾脏等网状内皮系统中的血小板清除。研究表明, 抗-HPA-1a 抗体缺乏核心岩藻糖残基的寡糖, 因此增强了与 Fc 受体的亲和力和对血小板的吞噬作用。降低致病抗体核心岩藻糖基化可增加与 Fc 受体的亲和力及对血小板的破坏作用。

5. 抗-GPIIb α 介导的非典型 FNAIT: 有研究比较抗-GPIIb α (人类为抗-HPA-2a) 与抗- $\beta 3$ 介导的 FNAIT 模型的发病机制, 发现抗-GPIIb α 介导的 FNAIT 小鼠大多数发生流产, 超过 83%的 GPIIb α 阴性雌性小鼠没有活产, 高于抗- $\beta 3$ 介导的 FNAIT 模型中观察到的发生率。进一步研究发现, 具有抗-GPIIb α 的雌鼠胎盘中表现出广泛的纤维蛋白沉积, 并严重损害胎盘功能和血液灌注。抗-GPIIb α 可激活血小板并诱导磷脂酰丝氨酸的表达, 导致血栓形成。因此, 母体对胎儿 GPIIb α 的免疫应答可能导致非典型的 FNAIT, 其特征表现为胎儿自然流产而没有新生儿出血, 从而掩盖了抗-GPIIb α 介导的 FNAIT 的严重性和发生率。

6. 感染在 FNAIT 病理机制中的作用: 一项研究将野生型小鼠血小板输注给 $\beta 3^{-/-}$ 或 GPIIb $\alpha^{-/-}$ 小鼠以监测靶向血小板抗原的免疫应答。为模拟病毒和细菌感染, 在血小板输注后立即腹腔内注射聚胞苷(聚胞苷酸和脂多糖), 并与雄性野生型小鼠交配受孕以建立 FNAIT 模型。结果表明, 血小板 GPIIb α 的免疫原性低于整联蛋白 $\beta 3$, 但与聚胞苷酸或脂多糖的共刺激显著增强了靶向血小板 GPIIb α 的免疫应答并引起严重的 FNAIT (表现为流产)。聚胞苷酸或脂多糖也增强了靶向整联蛋白 $\beta 3$ 的免疫应答。表明病毒和细菌感染可加重抗-GPIIb α 反应, 从而可能导致非典型 FNAIT。

7. 抗血管生成在 ICH 和胎儿生长受限中的作用: 研究发现, 尽管在抗- $\beta 3$ 和抗-GPIIb α 介导的 FNAIT 小鼠中均存在相似的血小板减少症, 但在研究的数百例抗-GPIIb α 介导的 FNAIT 胎鼠和新生鼠中没有发现 ICH, 仅在抗- $\beta 3$ 介导的 FNAIT 模型鼠中观察到脑和视网膜血管密度降低, 血管生成信号受损和内皮细胞凋亡增加, 而抗-GPIIb α 介导的 FNAIT 模型鼠中没有发现这些病理变化; 在培养的人内皮细胞中, 细胞增殖、血管形成仅受到来自 FNAIT 母鼠纯化的鼠抗- $\beta 3$ 血清和人 IgG 抗-HPA-1a 的抑制。推测胎儿止血可能是独特的, ICH 的主要原因可能是血管生成受损而不是血小板减少。由于胎儿大脑是发育过程中血管生成最多的器官之一, 比成人大脑具有更多的新生血管, 这可以解释为什么 FNAIT 中 ICH 的概率比特发性血小板减少性紫癜高 10~100 倍。由于抗- $\beta 3$

损害血管生成还可能影响胎盘和胎儿血管生成,导致胎儿生长受限。挪威针对 FNAIT 的研究显示,母亲抗-HPA-1a 水平与其分娩的男婴出生体重降低之间存在明显的相关性,符合这一假设。

二、FNAIT 的诊断

1. 新生儿血小板计数:大多数 FNAIT 病例是在新生儿出生时出现瘀点或其他出血迹象,血常规检测显示血小板计数低,在排除其他任何已知可导致新生儿血小板减少的疾病时才考虑 FNAIT。FNAIT 的新生儿通常在生后的最初 72h 内出现血小板减少。但在没有瘀点的情况下,许多轻至中度 FNAIT 病例(血小板计数 $>50\times 10^9/L$)易被忽视。

2. 母体血小板抗体检测:目前尚无普遍认可的 FNAIT 产前诊断方案。对 HPA-1a 阴性孕妇检测抗-HPA-1a 水平,可能对预测 FNAIT 的风险程度有意义。对分娩过 FNAIT 患儿或有不明原因自然流产史的孕妇进行血小板相关抗体筛查,以预测 FNAIT 的风险,相对可行。母体循环血液中检出靶向胎儿(或新生儿)血小板抗原的抗体是诊断 FNAIT 的重要依据,FNAIT 患儿血液中也检出与其母亲血液中相同的特异性靶向患儿血小板抗原的抗体。常用的血小板抗体检测方法有酶联免疫吸附试验、免疫荧光试验和单克隆抗体特异的血小板抗原固定试验(MAIPA)。MAIPA 是国际输血协会推荐的检测 HPA 抗体的金标准,可用于血小板抗体的筛选、鉴定和血清学血小板交叉匹配试验。MAIPA 具有良好的敏感性(定量下限为 1IU/ml)和特异性(不受人源抗-A、抗-B、抗-I、抗-P 等常见红细胞抗体干扰),对 HPA-1a、HPA-3a、HPA-5b 这 3 种常见的引起 FNAIT 的抗体的检测准确性均在 96%以上。但由于 MAIPA 检测通常需要 2~3d,时间较长,因此 MAIPA 检测最适用于 FNAIT 确诊和监测患儿母亲再次妊娠时的血小板抗体水平。

在罕见的 FNAIT 病例中,分娩时采集的母亲血样本中可能检测不到血小板抗体。因此对符合 FNAIT 临床诊断的病例,应随访血清学检查结果,尤其是患儿母亲再次妊娠时。由抗血小板抗体引起的严重 FNAIT 病例,由于抗体的低亲和力而产生阴性血清学结果,可能是抗体在试验洗涤步骤中不能保持与其特异性抗原结合所致,推荐采用表面等离子共振技术检测 FNAIT 病例这种低亲和力的抗体。

3. 胎儿血小板抗原基因检测:FNAIT 患儿母亲再次妊娠时发生 FNAIT 的概率取决于胎儿生物学父亲携带的与胎儿母亲血小板抗体靶向抗原的基因型。如胎儿生物学父亲携带的抗原基因为纯合子,则 FNAIT 的发生率接近 100%,如胎儿生物学父亲携带的抗原基因为杂合子,则 FNAIT 的发生率为 50%。因此,曾经发生过 FNAIT 的妇女再次妊娠时,应对胎儿进行孕妇血小板抗体靶向抗原的基因检测。现在,已可通过检测孕妇血浆中的胎儿 DNA 对胎儿进行 HPA-1a 分型。

三、FNAIT 的治疗

(一) 产前治疗

由于目前尚不完全清楚哪些血小板同种免疫性抗体引起的 FNAIT 具有出血高风险,血小板计数下降水平与疾病严重程度也不呈线性相关,因此建议对已检出血小板同种免疫性抗体,且胎儿血小板表达相应抗原的孕妇可给予非侵入性的预防性产前治疗。在目前缺乏可靠的非侵入性评估指标以指导产前诊断和治疗的背景下,应谨慎选择产前侵入性操作(包括脐血管穿刺采样和宫内输注血小板)。

1. IVIG:在动物模型中 IVIG 对 FNAIT 的治疗是有效的,但在临床治疗中的效果和预防 ICH 的作用存在争议。IVIG 治疗被 HPA-1a 免疫的孕妇一般从妊娠 12 周开始,使用剂量在瑞典和荷兰分别为每周 0.5g/kg 和 2.0g/kg。

2. 类固醇治疗:IVIG 联合类固醇治疗比单独使用 IVIG 对预防严重 FNAIT 更有效。研究建议,根据前次妊娠的胎儿/新生儿是否因 FNAIT 发生 ICH 进行分级治疗,如果前次妊娠的胎儿/新生儿没有发生 ICH,本次妊娠于孕 30~32 周开始治疗至分娩;前次妊娠胎儿/新生儿因 FNAIT 发生 ICH 者,本次妊娠于孕 16~18 周开始治疗至分娩,用量均为 IVIG 每周 1.0g/kg、泼尼松每天 0.5mg/kg。对于胎儿可能发生严重 ICH 的孕妇,可增加用量为 IVIG 每周 2.0g/kg、泼尼松每天 1.0mg/kg。

3. 抗 Fc 受体治疗:抗 Fc 受体治疗的作用机制尚不清楚。动物模型研究显示,抗 Fc 受体单克隆抗体可阻断母体致病性 IgG 血小板抗体转移至胎儿体内,从而使 FNAIT 引起的流产、血小板减少、出血和血管生成受损等均得到显著改善。但该治疗方法的安全性和有效性还有待临床试验验证。

4. 宫内输注血小板:对严重 FNAIT 胎儿每周宫内输注血小板治疗已被广泛应用于临床。但宫内输注血小板有引起胎儿死亡的风险。而且,如果胎儿出血(如 ICH)是由血管生成受损而不是血小板减少引起的,宫内输注血小板可能不是有效的治疗措施。因此宫内输注血小板前需要充分评估可能的风险与收益。

5. 选择性剖宫产:选择性剖宫产可能有助于防止 FNAIT 胎儿在分娩时发生 ICH,因此建议对于检出血小板

抗体并可能引起 FNAIT 的孕妇（无论前次妊娠的胎儿是否发生 ICH）妊娠 39 周时行剖宫产终止妊娠。研究发现，MAIPA 检测的孕妇抗-HPA-1a 同种抗体水平曲线下面积与分娩时新生儿血小板计数呈负相关，即曲线下面积越小新生儿血小板计数越接近正常水平，而曲线下面积越大新生儿越易发生严重 FNAIT。基于这一发现，建议根据 MAIPA 检测孕妇抗-HPA-1a 同种抗体水平评估风险，当曲线下面积 < 23IU/ml 时推荐阴道分娩，当曲线下面积 > 23IU/ml 时推荐剖宫产。

（二）生后治疗

1. 输注血小板：对于有出血倾向的 FNAIT 新生儿输注抗体靶向抗原阴性的匹配供者血小板是最佳治疗选择，在高达 95% 的 FNAIT 新生儿病例中，输注 HPA-1a 和 HPA-5b 阴性供者的相容血小板，可有效提高血小板计数及存活率。但很少有医院和供血机构保存有已进行基因分型的血小板用于紧急输血。在没有相容供者血小板时，如果患儿母亲适合血小板单采术，则可用其母亲单采血小板经过洗涤（去除血小板抗体）、辐照（灭活淋巴细胞以预防发生输血相关移植物抗宿主病）后输注给患儿，但此过程需要几个小时且需要特殊设备，因此仅可用于提前预知的 FNAIT 患儿（如孕妇有 FNAIT 妊娠史），可在分娩前进行血小板单采术。在没有匹配供者血小板时也可输注随机供者血小板，直到可获得相容的血小板。即使随机供者血小板与进入患儿体内的抗体不相容也可在短时间内提升血小板计数，随后可能会被不相容抗体破坏，但同时也中和了抗体，从而可能减轻抗体对患儿自身血小板的破坏。

2. IVIG：虽然已经观察到 IVIG 对 FNAIT 患儿有一定的益处，并提倡在没有匹配供者血小板输注时可给予 IVIG 治疗，但目前还缺乏临床随机对照试验评估其有效性。

四、FNAIT 的预防

抗体介导的免疫抑制（AMIS）预防 RhD 阴性妇女被 RhD 抗原同种免疫起到了良好效果，常规在孕 28~34 周期间和产后给未产生同种免疫性抗-D 的 RhD 阴性孕妇注射抗-D 免疫球蛋白，已成为标准的预防措施。为验证 AMIS 预防 FNAIT 的有效性，一项研究给 β 3-/- 雌性小鼠在输注 HPA-1a 阳性人血小板或野生型小鼠血小板后，静脉注射人 IgG 抗-HPA-1a（多克隆和单克隆抗体）或鼠抗- β 3 血清，诱导针对人 HPA1a 和野生型小鼠 β 3 抗原的 AMIS，可使 β 3-/- 小鼠被人 HPA-1a 或鼠血小板抗原免疫减少 90%，从而改善妊娠结局和新生小鼠血小板计数水平。用于诱导 AMIS 的抗- β 3 血清同时也降低了抗-GPIIb/IIIa 抗体水平，表明 AMIS 作用可能不只限于抑制单一特异性的抗体产生。该研究表明，对孕妇给予抗血小板抗体诱导 AMIS 可能达到预防 FNAIT 的效果。因此，许多欧洲国家已在讨论是否有必要在孕妇保健计划中纳入 HPA-1a 分型，以确定对有 FNAIT 风险的孕妇实施 AMIS。现已有研制 IgG 抗-HPA-1a 制剂的报道，预计于 2020 年获得临床使用许可。

五、总结与展望

孕妇同种免疫性血小板抗体进入胎儿体内致敏胎儿血小板后，使致敏血小板在网状内皮系统被巨噬细胞吞噬，从而导致患儿血小板减少，是典型 FNAIT 的病理机制。已报道引起 FNAIT 的抗体有抗-HPA-1a、抗-HPA-1b、抗-HPA-5a、抗-HPA-5b、抗-HPA-4b、抗-HPA-3a、抗-HPA-2a 和抗-CD36 等，在欧美地区绝大多数 FNAIT 由抗-HPA-1a 引起。FNAIT 的主要风险是 ICH，而 ICH 的主要原因可能是来自母体的同种免疫性血小板抗体使患儿血管生成受损而不是血小板减少。抗-GPIIb/IIIa 还可诱导非典型 FNAIT。产前 IVIG、类固醇治疗、选择性剖宫产、抗 Fc 受体治疗、宫内输注血小板及产后给予患儿输注血小板、IVIG 是 FNAIT 的主要治疗措施。AMIS 有望用于 FNAIT 的预防。由于重视不够，目前国内报道 FNAIT 病例还很少。孕妇血小板抗体与流产的相关性、FNAIT 的高危因素、血小板抗体对血管内皮细胞的交叉反应是否为 ICH 和胎儿生长受限的原因、AMIS 预防 FNAIT 的效果、宫内输注血小板的风险与收益评估、抗 Fc 受体治疗 FNAIT 的效果等有待进一步深入研究。

2 《Royal College of Obstetricians and Gynaecologists. Prenatal Management of Pregnancies at Risk of Fetal Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia

（FNAIT）：Scientific Impact Paper No. 61》

《胎儿新生儿同种免疫性血小板减少症（FNAIT）风险妊娠的产前管理：科学影响论文 61 号》

作者：英国皇家妇产科医师学院（RCOG）

摘要: 它是什么? 胎儿新生儿同种免疫性血小板减少症 (FNAIT), 又称新生儿同种免疫性血小板减少症 (NAIT) 或胎母同种免疫性血小板减少症 (FMAIT), 是一种影响婴儿血小板的罕见病。FNAIT 会使婴儿面临出血的风险, 特别是脑部出血。在英国, 每周可能有一个婴儿受到严重的影响, 每 1000 个新生儿中就有 1 个受到轻度的影响。**它是如何引起的?** 血小板是对帮助凝血非常重要的血细胞。所有的血小板表面都有叫做 HPAs 的天然蛋白质。在婴儿身上, 这些抗原一半遗传自母亲, 一半遗传自父亲。在怀孕期间, 婴儿的一些血小板可以进入母亲的血液。在大多数情况下, 这不会造成问题。但在 FNAIT 的情况下, 母亲的免疫系统不能识别婴儿从父亲那里遗传来的 HPAs, 并产生抗体, 这些抗体可以穿过胎盘, 攻击婴儿的血小板。这些抗体被称为抗 HPAs, 其中最常见的抗体是抗 HPA-1a, 但也有其他较少见的抗体类型。如果发生这种情况, 婴儿的血小板可能被破坏, 导致他们的血小板计数下降到危险的低水平。如果血小板计数很低, 婴儿就有出生前脑部出血的风险。这种情况非常罕见, 但如果发生, 会对婴儿的健康产生严重影响。**它是如何遗传的?** 婴儿从母亲那里遗传一半 HPAs, 从父亲那里遗传一半 HPAs。因此, 婴儿可能与母亲有不同的 HPAs。由于这种情况非常罕见, 而且即使婴儿有患病的风险, 我们也无法知道它们会受到多大的影响, 因此目前不建议进行常规筛查。**我们能做些什么?** FNAIT 通常是在之前的婴儿血小板计数低的情况下被诊断。为父母提供血液测试, 病情可以确诊或排除。婴儿血小板偏低还有许多其他原因, 也需要进行检测。由于 FNAIT 非常罕见, 只有专科中心才有专门知识, 通常血液学家和胎儿医学医生会一起做检查并解释检查结果。幸运的是, 对大多数病例有一种有效的治疗方法叫做免疫球蛋白 (IVIg)。这种“血液制品”每周都会被静脉滴注给有患此病风险的女性。最早从下一次怀孕的第 16 周开始, 直到孩子出生, 给药 36-37 周。根据具体情况, 可考虑的较不常见的治疗方法包括类固醇片剂或注射, 或给婴儿输血小板。**本文告诉你什么?** 本文考虑了关于管理有 FNAIT 风险妊娠时的治疗选择的最新证据。具体来说, 我们讨论了筛查的作用, 何时开始注射 IVIg, 使用什么剂量, 以及有什么证据支持母亲类固醇。我们也考虑在非常罕见的情况下, 采样胎儿血, 并在婴儿出生前给予血小板输注。最后, 我们考虑对母亲进行血液检测来判断婴儿是否有风险的方法 (这在一些国家是提供的), 以及开发新的治疗方法来降低 FNAIT 的风险。

FNAIT 筛查——基因分型: 高通量、低成本的 HPA - 1a 基因分型现在已经可用。对于 HPA - 1a 阴性的女性, 胎儿 HPA 状态可以从母体血浆中的胎儿 DNA 确定, 如果胎儿 HPA - 1a 阴性, 则无需进一步随访。然而, 这还没有发展成为一种常规的实验室检测。Scheffer 等报道, 在荷兰的 34 例妊娠中, 该检测的敏感性和特异性均为 100%。或者, 可以检测父亲的 HPA - 1a 基因型, 如果为阴性, 则不需要随访。HPA - 1a 基因分型结果呈阳性后, 还可检测母亲的 HLA - DRB3*0101, 因 HLA - DRB3*0101 的存在与临床显著的 FNAIT 相关。DRB3*0101 阴性的女性在进一步随访中可能排除, 因为阴性预测值为 99%。然而, 这种检测在实践中的应用还没有得到大型研究的证实。**高危母亲胎儿 HPA 基因型检测:** 建议进行父亲的 HPA 检测。例如, 如果父亲的母亲抗体对应的 HPA 是杂合的, 有两种可能的方法, 概述如下。

(1) 有创检测

可以考虑在妊娠 16 周左右做羊膜穿刺术检测胎儿 HPA 状态。然而, 羊膜穿刺术有 0.5-1.0% 的流产风险, 且可能刺激抗 HPA 产生。虽然通过细胞游离 DNA (cfDNA) 对最常见的胎儿血小板抗原 (HPA-1a) 进行基因分型已经有报道, 但该技术尚未广泛作为常规临床服务。如果母亲不愿意做羊膜穿刺术, 可以在妊娠 18 周开始经验性提供 IVIg。这种方法在避免不治疗的潜在灾难性后果的同时, 将不可避免地给 50% 的妇女造成不必要的治疗, 以及随之而来的治疗费用和治疗风险。

羊膜穿刺术可以确定胎儿 HPA 状态, 但如果胎儿是女性, 羊膜穿刺术也可以用来确定 RhD 状态。这一点很重要, 因为这些女性应该接受罕见的 HPA-1a 和 5b 阴性且 RhD 阴性的血小板, 以防女性胎儿或新生儿是 RhD 阴性。如果没有进行羊膜穿刺术, 但母亲是 RhD 阴性, 则应将母体血液送检进行胎儿 RhD 基因分型, 以防止输注 RhD 阳性血小板致敏 RhD 阴性女婴。如果母亲是 RhD 阳性, 那么就不能用母体血液进行胎儿 RhD 基因分型。如果作为女性新生儿首选的 RhD 阴性血小板不可获得, 那么必须立即给予 RhD 阳性血小板。然而, 在给婴儿注射抗 - D 免疫球蛋白以防止抗 - D 致敏之前, 应该检测脐带血, 而且只有当婴儿是 RhD 阴性时, 才应该给婴儿注射抗 - D (皮下注射, 而不是肌肉注射, 因为新生儿的血细胞计数低)。

(2) 胎儿 HPA 基因型无创检测

当不清楚胎儿是否有母亲抗体对应的 HPA 时, 例如母亲有抗 HPA-1a, 而父亲是 HPA-1a 杂合子时, 进行无创胎儿 HPA 检测是可取的, 这种情况约占所有病例的 30%。其他例子包括: 生父不能进行 HPA 检测; 或者在体外

受精的情况下，配子供者不能进行 HPA 检测。在不知胎儿是否有母亲抗体对应的 HPA 时，从妊娠 16-18 周直到出生每周给予 1 次可能没必要的 IVIg，进行 FBS，或进行有创胎儿 HPA 检测（例如有小的流产风险的羊膜穿刺术）。

2011 年报道对母体血浆中胎儿 cfDNA 进行 HPA 基因分型检测。该研究在 34 名孕妇中证实，在妊娠中三个月早期可以可靠地检测孕妇的血液；在此之前，由于胎儿 DNA 水平低，可能会出现假阴性结果。母体 DNA HPA-1b 的非特异性扩增主要通过 PCR 前消化 HPA-1a 来克服，但偶尔母体 HPA-1b DNA 的不完全消化会导致假阳性或胎儿结果不确定。2013 年，又报道了两种 HPA 基因分型技术，不太容易出现这种问题，可以检测胎儿 HPA-1a 或-1b 基因：采用 SYBR®Green 技术进行的等位基因特异性实时 PCR 检测，对 49 名妊娠 17 周后的女性样本进行了可靠的检测，因为 17 周之前样本的检测结果有些不一致。该技术区分了对侧等位基因的特异性和非特异性扩增。PCR 扩增产物的高分辨率熔解技术是基于 HPA-1a 和-1b 的熔解温度相差 0.7℃。所有 46 名妇女的检测结果都是正确的。这些技术似乎比 Msp1 限制性方法更特异，但仍然依赖于从母体血液中提取足够的胎儿 cfDNA，以避免胎儿结果的假阴性。确保胎儿 DNA 存在的对照也是一个问题。因此，该研究建议从怀孕 15 周开始同时使用这两种检测方法，以确保结果正确，尽管需要支付额外费用。然而，无论是这些检测方法，还是 Msp1 限制性检测方法，都没有被其他国家（欧洲或世界各地）广泛采用，这是由于建立和验证检测方法需要大量资源，以及涉及的病例数量较少。

3 《胎儿同种免疫性血小板减少症的产科管理进展》

作者：李平 袁熙 张卫社 赵延华

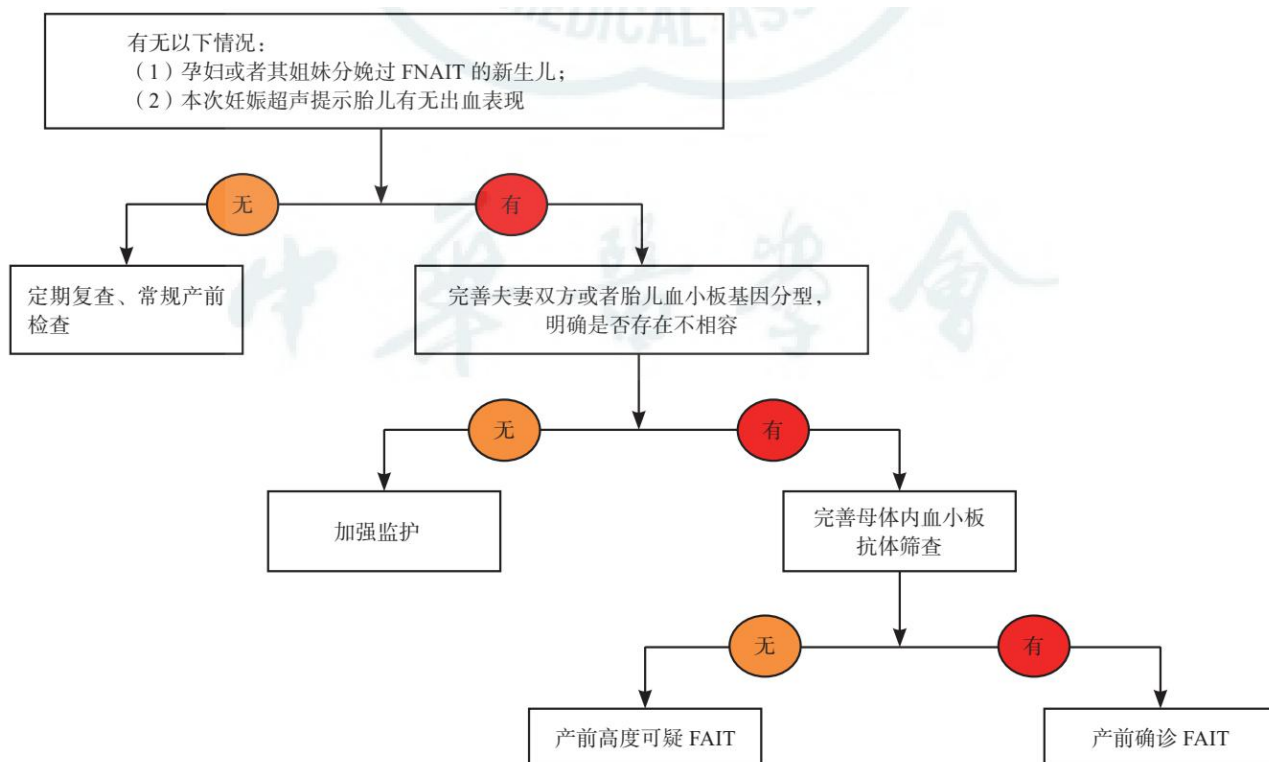
来源：中华围产医学杂志 2021 年 1 月第 24 卷第 1 期

摘要：胎儿同种免疫性血小板减少症（fetal alloimmune thrombocytopenia, FAIT）是一种围产期的严重并发症，影响胎儿发育，甚至导致胎儿宫内出血及死亡。虽然 FAIT 危害严重，但因发病率低、治疗经验有限，临床诊治存在较多争议。本文基于国内外指南、共识及相关研究对 FAIT 的发病概况、高危因素筛查、产前管理流程、分娩管理等问题进行综述，期望为 FAIT 的临床管理提供帮助。

FAIT 的产前诊断：

因为 FAIT 无创产前检查技术的限制，目前无法对孕妇进行常规的产前筛查及诊断。但是，对于有以下高危因素者应该进行产前诊断。（1）产前高度怀疑为 FAIT；（2）产前超声发现胎儿异常出血表现，尤其是颅内出血；（3）孕妇前次妊娠并发 FNAIT；（4）孕妇的姐妹妊娠并发 FNAIT。具体的产期诊断流程如下：**首先对母亲、父亲和胎儿进行 HPA 分型，分析母亲与胎儿是否存在 HPA 不相容**；然后建议使用改良单克隆抗体血小板抗原固定实验（MAIPA）分析鉴定母体血小板特异性同种抗体，或检测母体血清中的自身抗体。有文献表明，脐带穿刺后的妊娠丢失率高达 11%，因此目前其不是临床诊断的一线选择。许多实验室虽已利用无创产前诊断方法检测孕妇血浆中的 HPA-1a DNA，但大多数国家或地区尚未将其纳入常规临床检测项目。Scheffer 等对 34 例孕妇的检测结果显示胎儿血小板抗原的灵敏度和特异度均达到 100%。虽然该无创产前技术具有较高灵敏度，但是因为目前临床上对确诊 FAIT 后的治疗时间点存在争议，因此该技术尚未在临床上常规应用。

对于 FAIT 的产前诊断需要综合判断。首先明确孕妇或其姐妹有无分娩过 FNAIT 的新生儿，或者本次妊娠超声是否提示胎儿存在出血表现等高危因素，特别是颅内出血；若存在上述情况，高度怀疑 FAIT。在此基础上，完善夫妻双方或者胎儿的血小板分型检查，若夫妻双方血小板分型不合或母儿分型不合，则继续对母体内的血小板抗体进行检测，若血小板抗体阳性，则确诊 FAIT。FAIT 产前诊断流程见图 2。



4 《皖北地区 1025 例孕妇抗-HPA 抗体的初步研究》

作者: 张军 王彩莲 陈丽 陆褚楚

来源: 中国免疫学杂志 2020 年第 36 卷第 5 期

摘要: **目的:** 探讨皖北地区孕妇血小板抗体的产生与基因型分布情况, 为中国孕妇是否进行产前血小板抗体筛查提供基础数据和统计学依据。 **方法:** 选择 2016 年 12 月至 2017 年 12 月在本医院进行产检的 1025 例孕妇为研究对象, 收集其外周血, 用单克隆抗体特异性血小板抗原固定术对孕妇血清进行血小板抗体初筛, 对于初筛阳性标本用二磷酸氯喹去除人类白细胞抗原 (HLA) 的作用后重复进行初筛实验, 仍为阳性的标本利用抗原捕获酶联免疫吸附试验进行血小板抗体抗原特异性分析。对于抗-HLA 抗体阳性标本用聚合酶链反应-序列特异性引物 (PCR-SSP) 法进行 HLA 基因型检测, 对人类血小板抗原 (抗-HPA) 抗体阳性标本用 PCR-SSP 法进行 HLA 和 HPA 基因型检测。 **结果:** 1025 例孕妇中血小板抗体阳性者共 45 例, 总阳性率为 4.39%, 其中 41 例为抗-HLA 抗体阳性, 4 例为抗-HLA 抗体和抗-HPA 抗体同时阳性; 初次妊娠孕妇 (410 例) 与多次妊娠孕妇 (615 例) 比较, 血小板抗体阳性者分别为 6 例和 39 例, 阳性率分别为 1.46% 和 6.34%, 差异具有统计学意义 ($\chi^2=13.95$, $P<0.05$); 在多次妊娠孕妇中, 有 2 次妊娠史 (388 例)、3 次妊娠史 (188 例)、4 次及以上妊娠史 (89 例) 孕妇血小板抗体阳性者分别为 18 例、10 例、11 例, 阳性率分别为 4.64%、7.25%、12.36%, 三组比较差异具有统计学意义 ($\chi^2=7.51$, $P<0.05$)。 **结论:** 皖北地区孕妇血小板抗体阳性率为 4.39%, 其中抗-HLA 抗体阳性率为 4.39%, 抗-HPA 抗体阳性率为 0.39%, 且抗 HPA 抗体阳性孕妇同时伴有抗-HLA 抗体阳性; 孕妇血小板抗体的产生与妊娠次数有着密切的关系, 抗体阳性率随着妊娠次数的增加而增高; 在皖北地区人群中致新生儿同种免疫性血小板减少症发生的致病抗体可能为抗-HPA-5b 抗体; 皖北地区血小板抗体阳性孕妇的基因分型中, 频率较高的 HLA-A 特异性抗原 A2、A24、A11、A33, HLA-B 特异性抗原 B46、B13、B60、B62、B58, HLA-DQ 特异性抗原 DQ6、DQ2、DQ9、DQ5、DQ7, HLA-DR 特异性抗原 DR9、DR4、DR15、DR7、DR12、DR13。

研究对象: 选取 2016 年 12 月至 2017 年 12 月在蚌埠医学院第一附属医院进行产检的孕 12~40 周孕妇 1025 例, 初次妊娠者 410 例, 多次妊娠者 615 例, 其中有 2 次妊娠史者 388 例, 3 次妊娠史者 188 例, 4 次及以上妊娠史者 89 例。所有孕妇均记录孕妇产检时的血小板计数。

主要试剂: MASPAT 血小板抗体检测试剂盒购自荷兰 Sanquin 公司, GTI 血小板抗体检测试剂盒购自北京博富瑞基因诊断技术有限公司, 人类血小板同种抗原 HPA 基因分型试剂盒、HLA-ABDRDQ 基因分型中分辨测定试剂盒购自

天津秀鹏生物技术开发有限公司。

血小板抗体筛查结果分析：抗-HPA 抗体阳性率为 0.39%。4 例抗-HPA 抗体阳性孕妇年龄均≥38 岁，妊娠次数均≥3 次，无血小板减少患儿生产史，在此 4 例孕妇中仅有 1 例被确定为抗-HPA-5b 抗体阳性，该孕妇年龄 41 岁，此次为第 4 次妊娠，顺产 1 次，流产 2 次，无输血史、血小板减少病史及自身免疫性疾病病史。

抗-HPA 抗体阳性孕妇的 HPA1-17 基因分型结果：在 4 例抗-HPA 抗体阳性孕妇中，有 3 例孕妇 HPA1-17 基因型组合为 HPA-（1，2，4-14，16，17）aa-3ab-15ab，1 例为 HPA-（1，2，4-14，16，17）aa-3aa-15aa。其中确定抗-HPA-5b 抗体阳性孕妇的 HPA1-17 基因型组合为 HPA-（1，2，4-14，16，17）aa-3ab-15ab。

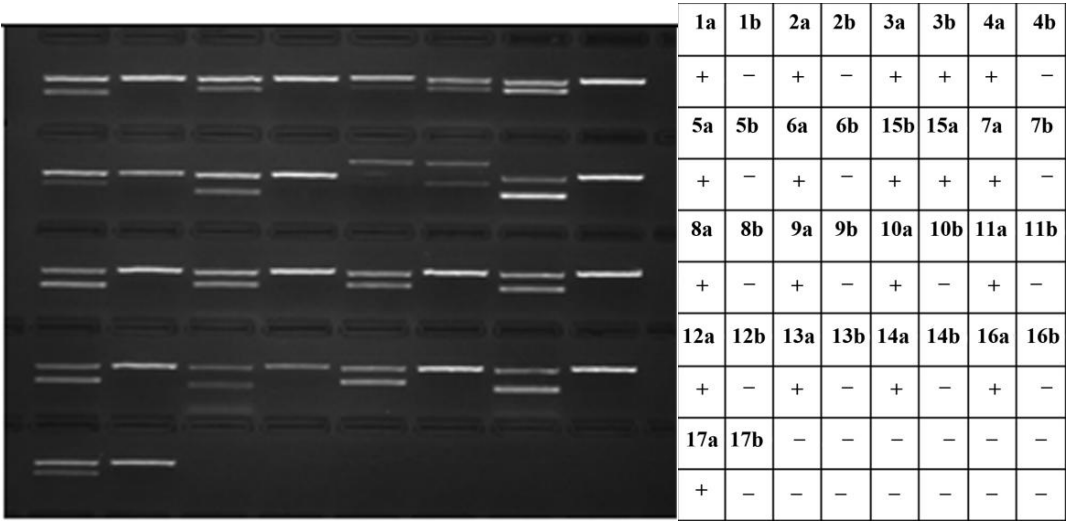


图 3 HPA 1-17 基因分型琼脂糖电泳图 HPA 基因型为 HPA-(1,2,4-14,16,17) aa-3ab-15ab

关于新生儿 NAIT 的发病情况：在随后对 1025 例孕妇的随访中，通过对新生儿出生后血小板计数情况（血小板计数均<150×10⁹L⁻¹）或者临床表现（皮肤黏膜有瘀点、瘀斑或有颅内出血）的观察，未发现新生儿发生 NAIT。

讨论

对于血小板抗体初筛阳性的 45 例标本，我们用二磷酸氯喹预处理血小板抗原以除去 HLA 的作用后，重复进行初筛试验，血小板抗体仍为阳性（即抗-HPA 抗体阳性）的有 4 例，抗 HPA 抗体阳性率为 0.39%，该 4 例孕妇妊娠次数均在 3 次及以上，后通过随访发现，该 4 例孕妇所产新生儿并未发生血小板减少，考虑有两点原因，一是因为母体转运 IgG 类抗体时受到胎儿 Fc 受体调节所致，二是可能与抗-HPA 抗体滴度较低有关，也有研究显示，在白种人中最具免疫原性的抗原是 HPA-1a 中，但也只会使 10%的 HPA-1bb 母亲致敏，因此并不是所有胎母 HPA 抗原不合和抗-HPA 抗体都导致新生儿发生 NAIT。

为明确 4 例抗-HPA 抗体阳性孕妇是否同时伴有抗-HLA 抗体阳性并确定抗 HPA 抗体抗原特异性，4 例标本采用抗原捕获酶联免疫吸附试验用一组已知表型的小血小板抗原对待测血小板抗体进行筛检后发现，4 例标本都同时伴有抗-HLA 抗体阳性，这与文献中提到的抗-HPA 抗体单独存在的频率较低而常与抗-HLA 抗体共同存在的现象一致。值得提出的是，4 例抗-HPA 抗体阳性标本用此方法检测后抗-HPA 抗体阳性者反而只有 1 例，为抗-HPA-5b 抗体，考虑是因为 GTI 血小板抗体检测试剂盒虽可鉴定血小板抗体抗原特异性，但该试剂盒中血小板抗原只包括 HPA-1，3，4，5 和 HLA-I，并没有包含目前发现的所有 35 种 HPA，尤其是比较常见的 HPA-2，15。该例抗-HPA-5b 抗体阳性孕妇的 HPA1-17 基因型为 HPA-（1，2，4-14，16，17）aa-3ab-15ab，因此考虑该抗体是孕妇针对胎儿遗传自父亲的不相容同种异体抗原 HPA-5b 产生的，但遗憾之处是并没有对胎儿及其父亲做 HPA 基因分型。很多文献报道，同属亚洲人群的日本人群中导致 NAIT 发生的主要是抗-HPA-5b 抗体，因此，我们也有理由假设在皖北地区人群中甚至中国人群中致 NAIT 发生的致病抗体可能为抗-HPA-5b 抗体。

诊断 NAIT 时需要对孕妇血清中的抗-HPA 抗体进行鉴定，并对母子之间的 HPA 抗原是否相容进行分析。有条件的医院可以应用分子生物学技术进一步对患儿及其父母进行 HLA 及 HPA 基因分型检测，根据相应的抗原进行抗体特异性分析，以明确病因及指导临床治疗。同时我们也建议育龄妇女在孕前进行血小板抗体的筛查，评估由于血小板抗体引起的早期流产和 NAIT 的发生概率，确保优生优育。

虽然 NAIT 及血小板血型已经得到越来越多人的关注，但都是由于生产过患有该病的新生儿后才被重视，目前多数国家都没有开展对该病的筛查工作和对该病的风险评估，这可以成为妇产科、儿科及输血科共同的研究方

向。文献报道，在亚洲人口中与免疫介导的血小板减少有关的最重要的血小板抗体是抗-HPA-3 抗体和抗-HPA-4 抗体，其中并未包括我国，而目前我国只是部分地区建立了血小板 HLA 和 HPA 基因型资料库，其抗原基因型都有区域性分布特征。虽然国内外对不同群体的 HPA 和 HLA 分布已有较多研究，但因 HPA 和 HLA 基因分布在不同种族、不同民族甚至同一民族的不同人群中各不相同，具有临床意义的抗原也不尽相同，故仍有必要了解各个地区的 HPA 和 HLA 分布频率，并藉此建立本地化的血小板供者资料库。因此每个地区都应调查本地区 HLA 和 HPA 基因型分布特征，掌握本地区的优势同种抗原及高危抗原系统，针对特殊人群如孕妇、患有自身免疫性血小板减少症的患者进行血小板抗体筛查，同时建立本地区血小板捐献者 HLA 和 HPA 基因型资料库，以便能达到 HLA 血型 和 HPA 血型均匹配的血小板输注治疗，这样可以减少血小板输注无效的发生，孕妇及伴有血小板减少的患者能及时、有效地输注血小板制剂，节约医疗资源，提高临床治疗效果，更有重要的免疫学意义和社会效益。

5 《胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症的诊断—附 1 例并文献复习》

作者：郝欣欣 邓晶 丛桂敏 乔宠 叶欣 王秋实

来源：中国输血杂志 2020 年 11 月第 33 卷第 11 期

摘要：目的：探讨胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症（FNAIT）的发病机制、临床特点和治疗方式，辅助临床诊断，更好的预防和治疗本病。**方法：**附 1 例胎儿同种免疫性血小板减少症病例报告，并对近年国内外关于胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症进行文献回顾。**结果：**胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症并不少见，主要致病因素为母体和胎儿血小板 HLA- I 和/或 HPA 抗原不和，或 CD36 抗原缺失导致产生抗体。临床症状轻重不一，其中以颅内出血最严重。HPA 和 CD36 基因分布存在多态性，中国 HPA-3 杂合度最高。本文病例为抗 HPA-3a 引起 FNAIT，伴颅内出血引起流产案例。**结论：**血小板相关抗体检测用于 FNAIT 诊断和发现，并指导进一步治疗方案。**临床资料：**孕妇，30 岁，孕 4 产 0，24 岁结婚。既往孕 20 周胎死宫内 1 次，孕 36 周胎儿颅内病变流产 1 次，孕 36 周胎儿胸腔积液流产 1 次，原因均不详。本次孕前诊断为抗磷脂抗体综合征，孕期使用强的松（16 周停止）、赛能（早晚各 1 片）、阿司匹林 50mg 日 1 次口服，速碧林 0.4mL 日 1 次皮下注射，孕早期羊水穿刺未见异常，孕 35⁺ 行彩超检查提示胎儿颅内出血。妊娠 36 周，以单胎头位，颅内出血，胎死宫内为病因引产。流产胎儿 Plt 为 $8 \times 10^9/L$ ，为了进一步明确胎儿颅内出血原因，采集孕妇及其胎儿血样进行血小板相关抗原和抗体检测和 CD36 基因检测。

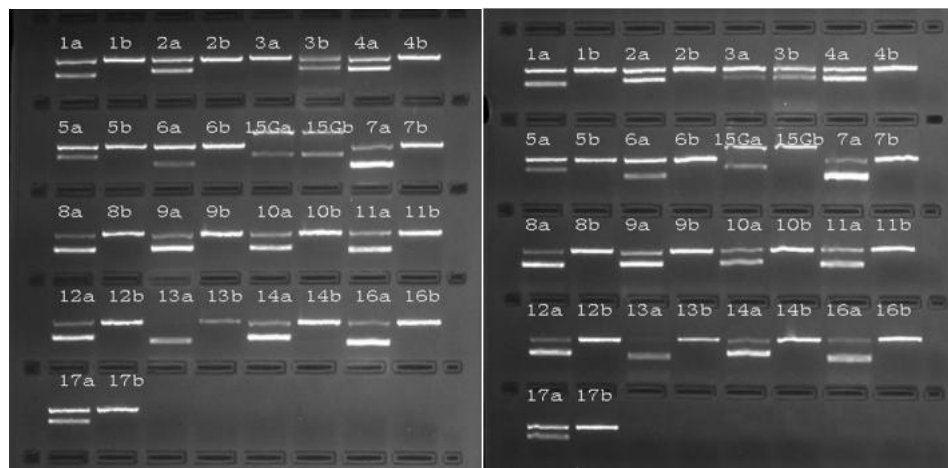
血小板相关抗体筛查结果：孕妇和胎儿血清标本氯喹处理前后均阳性。

血小板抗体鉴定结果：HPA 抗体检测试剂盒包被了血小板特异性抗体（抗-HPA）和组织相容性抗体（抗-HLA- I ），其中血小板特异性糖蛋白 GP II b/IIIa 孔包被的抗原为 HPA-1a/1a、HPA-3a/3a、HPA-4a/4a；HPA-1b/1b、HPA-3b/3b、HPA-4a/4a。GP I a/II a 孔分别包被了 HPA-5b/5b 和 HPA5a/5a。孕妇和胎儿血清显示 GPIIb/IIIa 抗原孔内反应为阳性结果，阳性孔表达抗原为 HPA-1a/1a、HPA-3a/3a、HPA-4a/4a。

HPA 抗原基因分型结果：胎儿和母亲 HPA 抗原基因分型结果见表 1，母亲表达 HPA-3b/3b、15Ga/15Gb，胎儿表达 HPA-3a/3b、15Ga/15Ga，根据母亲和胎儿血清中 GP II b/IIIa 抗体阳性，结果推断孕妇和胎儿血清中含有抗-HPA-3a。

表 1 母亲和胎儿 HPA 抗原基因分型结果

基因型来源	母亲	胎儿	基因型来源	母亲	胎儿
1a	+	+	10a	+	+
1b	-	-	10b	-	-
2a	+	+	11a	+	+
2b	-	-	11b	-	-
3a	-	+	12a	+	+
3b	+	+	12b	-	-
4a	+	+	13a	+	+
4b	-	-	13b	-	-
5a	+	+	14a	+	+
5b	-	-	14b	-	-
6a	+	+	16a	+	+
6b	-	-	16b	-	-
15Gova	+	+	17a	+	+
15Govb	+	-	17b	-	-
8a	+	+	Gaba-	+	+
8b	-	-	Gaba+	-	-
9a	+	+			
9b	-	-			



母亲 HPA 基因

胎儿 HPA 基因

CD36 抗原检测：胎儿和母亲的 CD36 抗原均为阳性，无 CD36 基因突变。

讨论：本案例中，产妇表型为 HPA-3b/3b，胎儿表型为 HPA-3a/3b，产妇与胎儿仅有 HPA3 抗原表达不同，且抗体鉴定显示在 HPA-3a/3a 抗原呈现阳性反应，证实胎儿体内存在抗-HPA-3a。妊娠刺激母体产生免疫性 IgG 抗体（抗-HPA-3a），经胎盘进入胎儿体循环破坏血小板，使胎儿血小板减少至 $8 \times 10^9/L$ ，出现严重出血症状（超声提示颅内出血），可以明确是由抗-HPA-3a 引起 FNAIT。由于以往对 FNAIT 认识不清，之前的几次流产没有明确诊断，不排除前 3 次死胎或流产也是由抗-HPA-3a 引起胎儿病变。与白种人不同，我国汉族人 HPA 抗原中，HPA-3 基因的杂合度高达 35% 以上，HPA-2 和 HPA-5 次之，且 HPA-1、2、4、5 系统均以 aa 纯合子为主，因此推测引起 FNAIT 的 HPA 抗原免疫主要发生在 HPA-2、3、5 系统，但是具体发病情况还缺乏系统报告。

6 《Timely diagnosis and treatment of neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by anti HPA-3a antibody: A case report》

《抗 HPA-3a 抗体致新生儿同种免疫性血小板减少症的及时诊治：1 个病例报道》

作者：Yang Q, Lv X, Kong Y, et al.

来源：Medicine (Baltimore) . 2019 May;98 (19) :e15440.

摘要：理论依据：由抗 HPA-3a 抗体引起的新生儿同种免疫性血小板减少症（NAIT）罕见，且临床特征非特异。

患者问题：一名男婴，出生后发现过敏，体格检查发现右臂和大腿有瘀点和青肿。**诊断：**采用单克隆抗体特异的血小板抗原固定（MAIPA）试验检测血小板抗体，采用 PCR-SSP 技术进行 HPA 基因分型（HPA 1-17）。新生儿的 HPA 基因型为 HPA-3a/b，母亲为 HPA-3b/b，父亲为 HPA-3a/a。新生儿血清中含有抗其父血小板的抗体。新生儿的 HPA 抗体经鉴定为抗 HPA-3a。该新生儿被确诊为抗 HPA-3a 抗体引起的 NAIT 患者。**干预措施：**第 3 天至第 7 天给予单次静脉注射免疫球蛋白 1 g/kg。**结局：**出院后 3 个月随访，患儿发育正常，血小板计数正常（ $361 \times 10^9/L$ ）。**经验：**由抗 HPA-3a 抗体引起的 NAIT 罕见，我们相信本研究可以为诊断未来的病例提供见解。HPA-3a 引起的 NAIT 如能及时诊断和治疗，预后良好。

病例：患儿：男，第 1 胎顺产。其母 30 岁，妊娠期间正常，无相关药物服用史；无生育史，无妊娠史，无输血史，无乙肝感染史；血小板及白细胞正常。男婴（出生体重：4050 克）出生时总体健康，1、5、10 分钟 Apgar 评分分别为 9、9、10 分。出生后约 36 小时，婴儿过敏，体格检查发现右臂和大腿有瘀点和青肿，一直延伸到背部和右肩区域。婴儿血小板计数 $23 \times 10^9/L$ ，血红蛋白 15.9 g/dL，活化部分凝血活酶时间（APTT）36 秒（对照 26~32 秒），国际标准化比值（INR）1.4。红细胞和白细胞计数在正常范围内。无感染、畸形、血管瘤或肝脾肿大的迹象。母体血小板计数在正常范围内，无出血的家族史。婴儿的血液培养呈阴性。

讨论：由于对新生儿及时诊断，IVIG 治疗 4 天后才显现出疗效，这证明了 NAIT 早期诊断和治疗的重要性。

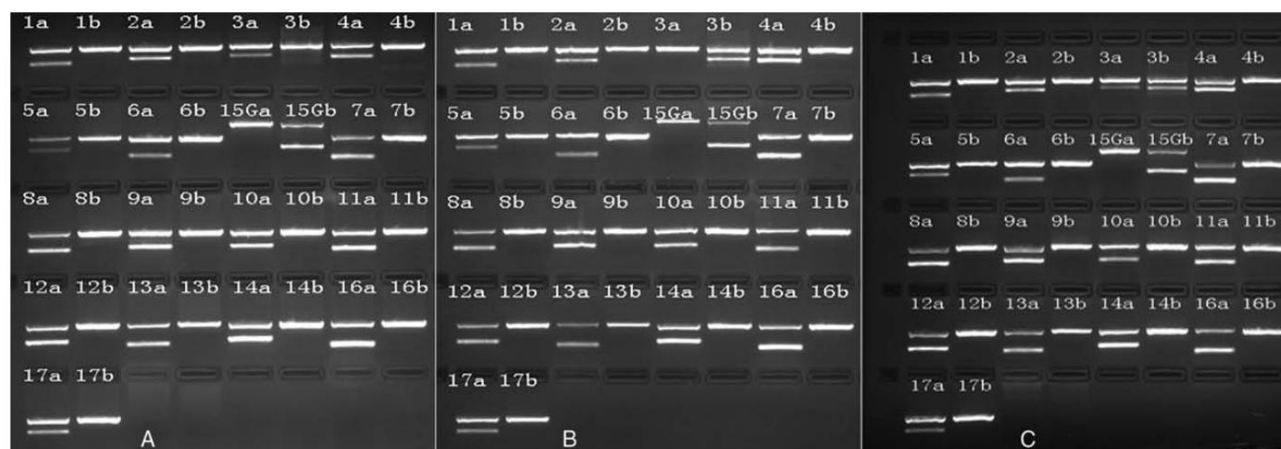


图 1 通过 PCR-SSP 检测婴儿父亲（A）、母亲（B）和婴儿（C）的 HPA 基因分型结果

7 《抗 HPA-3a 抗体所致 NAITP 一例并文献复习》

作者：周燕 钟周琳 李丽兰 申卫东 刘金莲 吴国光

来源：中华血液学杂志, 2013, 34 (01): 45-48.

摘要：**目的：**探讨抗血小板特异性抗原（HPA）-3a 抗体所致新生儿同种免疫性血小板减少性紫癜（NAITP）的诊断和治疗。**方法：**采用多重 PCR 及基因测序技术检测 1 例出血伴血小板减少新生儿及其父母 HPA-1~21bw 系统基因型，采用流式细胞术（FCM）和血小板抗原单克隆抗体特异性免疫固定检测技术（MAIPA）检测患儿及其母亲血清血小板特异性抗体并进行特异性鉴定。**结果：**患儿出生后 2 h 出现全身多发皮下出血点、血尿及咖啡色呕吐物。基因分型显示患儿为 HPA-3ab、母亲为 HPA-3bb、父亲为 HPA-3 aa；患儿及母亲血清中均含与患儿父亲血小板反应的特异性抗体，经 MAIPA 技术鉴定为抗 HPA-3a 抗体。**结论：**发现 1 例抗 HPA-3a 抗体所致 NAITP 患者，通过临床特征分析为该病的诊断和治疗提供借鉴与参考。

病例：患儿，男，第 1 胎足月顺产。其母有 1 次人工流产史，无输血史。出生时 Apgar 评分为 10 分，生后 2h 出现全身多发皮下出血点，继而出现血尿及咖啡色呕吐物，血常规示 PLT $(3\sim7) \times 10^9/L$ ，APTT 41.5s（正常参考值 23~35s），诊断为“新生儿血小板减少性紫癜”。给予静脉丙种球蛋白（1g/kg、1 次）、泼尼松（ $1mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$ 、连用 2d）及酚磺乙胺、奥美拉唑等对症治疗，于出生后第 3 天输注 HPA-3a 抗原阴性的血小板（10ml/kg）后，血小板计数逐渐上升，出血症状消失。出生后第 10 天复查 PLT $105 \times 10^9/L$ ，此后每月复查血常规 1 次，随访至出生后 6 个月，血小板计数均在正常范围。

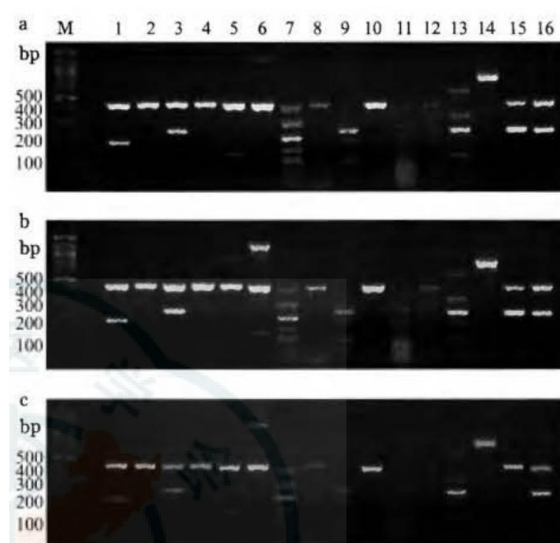
主要试剂：基因型分别为 HPA-1aa/1bb、HPA-2aa/2bb、HPA-3aa/3bb、HPA-4aa/4ab、HPA-5aa/5ab、HPA-6aa/6bb、HPA-15aa/15bb 的新鲜血小板抗原谱细胞均由本实验室制备。多重 PCR 人类血小板抗原 HPA 分型试剂盒由美国

G&T 公司提供。

流式细胞术（FCM）筛查血小板同种抗体：患儿及其母亲血清与基因型 HPA-3aa 的血小板抗原谱细胞及患儿父亲的血小板呈阳性反应，提示患儿及母亲血清中均含有与患儿父亲血小板反应的血小板同种抗体。

单克隆抗体特异性免疫固定检测技术（MAIPA）鉴定血小板同种抗体特异性：患儿及其母亲血清与基因型别为“HPA-3aa”的血小板抗原谱细胞呈阳性反应，与其他血小板抗原谱细胞均不反应；患儿或其母亲血清与患儿父亲血小板孵育，在加入 CD41（GPIIb）的条件下呈阳性反应，而加入 CD61（GPIIIa）、CD49b（GPIa/IIa），CD42b（GPIb）、CD109、HLA 单克隆抗体均为阴性反应。证实患儿及其母亲血清中存在与患儿父亲血小板反应的血小板同种抗体为抗 HPA-3a 抗体。

HPA-1~21bw 系统多重 PCR-SSP 基因分型检测结果：患儿血小板基因分型为 3ab/15ab（其余均为 aa），其母亲血小板基因分型为 3bb/15ab（其余均为 aa），其父亲血小板基因分型为 3aa/15bb（其余均为 aa）。除 HPA-3 系统外，患儿与其母亲的基因分型结果均一致。



M:Marker; 1:1a; 2:1b; 3:2a; 4:2b; 5:3a; 6:3b; 7:4a; 8:4b; 9:5a; 10:5b; 11:6a; 12:6b; 13:12a; 14:12b; 15:15a; 16:15b

图 1 患儿(a)、患儿母亲(b)、患儿父亲(c) HPA-1~21bw 基因分型电泳图(多重 PCR-SSP)

HPA-1-17bw 系统 HPA 基因测序结果：PCR 扩增所用引物与测序反应的引物序列一致，由上海生工生物工程服务有限公司合成。PCR 扩增。取 5 μ l 扩增产物，琼脂糖凝胶电泳后，置 UVP 凝胶成像仪上观察是否扩增出特异性条带。将余下的 45 μ l PCR 扩增产物送北京诺赛基因组研究中心有限公司进行测序。测序结果与多重 PCR-SSP 基因检测的结果完全吻合。

8 《第 2 胎抗 HPA-3a 抗体可使 NAIT 患儿病情加重》

作者：周燕，申卫东，刘金莲，钟周琳，李丽兰，吴国光

来源：临床检验杂志 2014 年 10 月第 32 卷第 10 期

摘要：目的：观察 1 例第 2 胎抗 HPA-3a 抗体致新生儿同种免疫血小板减少症（NAIT）患儿的病情与治疗情况。

方法：观察患儿症状和体征，并记录血小板（PLT）；筛查并鉴定患儿及其母亲血清中血小板特异性抗体；检测患儿及其父母 HPA-1~21bw 系统基因分型；监测患儿体内抗体效价波动情况并筛选配合性血小板给予输注治疗。

结果：患儿出生后 15min 内出现瘀斑、皮下出血点，脑部 B 超提示左侧室管膜下出血。患儿及母亲血清中均含与患儿父亲血小板反应的特异性抗体，经鉴定为抗 HPA-3a 抗体。HPA-1~21bw 系统基因分析显示患儿与其父母 HPA-3 不相容：母亲为 HPA-3bb、父亲为 HPA-3aa、患儿为 HPA-3ab。患儿共输注了 4 次相容血小板（HPA-3bb），并给予静脉输注 γ 球蛋白及类固醇激素治疗，于出生后第 29 天 PLT 恢复正常后出院。**结论：**第 2 胎抗 HPA-3a 抗体致 NAIT 患儿经对症治疗及输血治疗 PLT 恢复正常后出院，但临床表现及诊治过程较该产妇上一个患儿严重及复杂。

研究对象：患儿母亲，女，28 岁，汉族，有 1 次人工流产史，无输血史。于 2011 年产下 1 名确诊为抗 HPA-3a

引起的 NAIT 患儿（本刊第 6 号文献）。该妇女于 2014 年 2 月 9 日再次产下 1 名血小板减少患儿。此患儿为足月顺产，出生时 Apgar 评分为 10 分，出生后 15min 全身出现散在皮下出血点，以臀部明显，呕吐咖啡色物，非喷射状，血小板（PLT）计数为 $4 \times 10^9/L$ ，活化部分凝血活酶时间（APTT）延长至 61.4s（参考值为 28~41s），脑部 B 超提示左侧室管膜下出血，初步诊断为“新生儿血小板减少症”。患儿出生后第 2、13、20 天分别给予静脉注射 γ 球蛋白（每天 1g/kg，连续 3d）、氢化可的松琥珀酸钠（每天 5mg/kg，连续 3d）、地塞米松磷酸钠（每天 0.85mg/kg，连续 3d 后逐渐减量）等治疗，同时于出生后第 4、7、16、19 天输注配合性（HPA-3bb）血小板（10mL/kg），患儿 PLT 缓慢上升，于出生后第 29 天出血现象停止，复查 PLT 达 $292 \times 10^9/L$ 后出院。

9 《父母血小板血型不合引起 NAIT 的初步研究》

作者：邓晶，夏文杰，叶欣，徐秀章，邵媛，陈扬凯，丁浩强，罗广平，王嘉励

来源：热带医学杂志 2012 年 11 月第 12 卷第 11 期

摘要：目的：探讨由于父母血小板血型不合产生血小板抗体，诱导新生儿发生同种免疫性血小板减少症的相关性。**方法：**收集 22 例临床上确诊为新生儿免疫性血小板减少症（NIT）的患儿为研究对象，采用 ELISA 方法检测患儿及其父母的血小板相关抗体，应用 PCR-SSP 法对患儿及父母进行 HLA 及 HPA 基因分型，根据相应的抗原进行抗体特异性分析。**结果：**22 例 NIT 患儿中，14 例是由于同种免疫性因素引起的，其中 27.3%（6 例）由 HLA 抗体引起，13.6%（3 例）由 HPA 抗体引起，22.7%（5 例）由 HLA+HPA 抗体引起；9.1%（2 例）由于被动免疫性因素引起；27.3%（6 例）由自身抗体引起。其中，同种免疫性抗体以抗 HLA-A2、19，抗-B40 及抗 HPA-3a 多见。**结论：**在新生儿免疫性血小板减少症中，主要以父母血小板血型不合引起新生儿同种免疫性血小板减少症为主，临床产前诊断预防和产后治疗具有重要意义。

主要试剂：血小板抗体检测试剂盒（PAK-PLUS）和（PAK-AUTO）购自美国 GTI 公司：PAK-PLUS 检测抗-HPA 和抗-HLA-I，其中 GP II b/IIIa 孔分别包被了 HPA-1a/1a、-3a/3a、-4a/和 HPA-1b/1b、-3b/3b、-4a，GP I a/II a 孔分别包被了 HPA-5b/5b 和 HPA-5a/5a。PLUS-AUTO 提取病人血小板的放散液用于检测 GPIIb/IIIa、GPIa/IIa、GPIb/IX 的自身抗体。HPA 1-17 基因检测试剂盒购自天津秀鹏公司。LAT1240 检测试剂盒购自美国 ONE LAMBDA 公司：检测群体反应性抗体（PRA、抗-HLA）。HLA 基因分型试剂盒（SSP HLA-ABDR）购自美国 invitrogen。

HLA 抗原不合引起 NAIT：22 例 NIT 患者中 6 例为 HLA-I 类抗体阳性、HPA 抗体阴性，为 HLA 抗体引起的同种免疫性血小板减少症，其中 5 例患儿为免疫性血小板减少症，1 例为特发性血小板减少性紫癜（ITP），患儿母亲均有流产史或生育史。根据 HLA 抗原结果进行 HLA 抗体特异性分析，6 例患儿的 HLA 抗体均由父母 HLA 抗原不合引起（表 1）。

HPA 血型不合引起 NAIT：22 例 NIT 患者中有 3 例为单纯 HPA 抗体诱导的同种免疫性血小板减少症。其中 2 例患儿出现脑内出血、消化道出血症状，1 例为血小板减少症。在血小板膜糖蛋白 GP II b/IIIa 上主要包括 HPA-1、3、4，GP I a/II a 上主要包括 HPA-5，根据 HPA 抗原结果进行抗 HPA 抗体特异性分析得出，2 例由抗 HPA-3a 抗体引起，1 例由抗 HPA-5b 抗体引起（表 2）。

母婴 HLA 及 HPA 血型不合的同种免疫性血小板减少症：22 例 NIT 患者中 5 例是由于母婴 HLA 及 HPA 血型不合引起的同种免疫性血小板减少症。其中 ITP 3 例，血小板减少 1 例，急单 1 例。根据 HLA/HPA 抗原及抗体结果分析得出，5 例患儿的 HLA 抗体主要以抗 HLA-A19、抗 HLA-B40 为主；HPA 抗体以抗 HPA-3a（40%）及自身抗体（40%）为主（表 3）。

表 1 6 例由于 HLA 血型不合引起 NAIT 的结果分析

Tab.1 The analysis of six cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by HLA mismatching

序号		HLA-A	HLA-B	HLA-DR	抗-HLA
1	患儿	11, 11	13, 56 (22)	12, 16	-B22
	母亲	02, 11	13, 46	14, 16	
	父亲	02, 11	35, 56	04, 12	
2	患儿	11, 11	13, 15	12, 12	-A2
	母亲	11, 11	13, 40	12, 16	
3	患儿	02, 11	15, 40	14, 15	-A2, -B40
	母亲	01, 11	15, 37	10, 15	
4	患儿	32, 33	44, 58	03, 07	-B44
	母亲	11, 32	35, 58	03, 15	
	父亲	02, 02	46, 56 (22)	04, 09	-A11, -B22
5	患儿	02, 02	46, 56 (22)	04, 09	-A11, -B22
	母亲	02, 11	40 (60), 46	04, 09	
	父亲	02, 11	15 (75), 56	04, 12	
6	患儿	02, 33	38, 58	01, 17	-A2
	母亲	11, 33	27, 58	12, 17	
	父亲	02, 31	38, 57	01, 07	

表 2 3 例由于 HPA 血型不合引起 NAIT 的结果分析

Tab.2 The analysis of three cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by HPA incompatibility

序号		HPA1-17 (无列出者均为 aa 纯合子)	抗-HPA (PAK-PLUS)
7	患儿	3ab, 15ab	GPIIb/IIIa 抗-3a
	母亲	2ab, 3bb	GPIIb/IIIa
	父亲	15ab	
8	患儿	3ab, 6ab, 15bb	GPIIb/IIIa 抗-3a
	母亲	3bb, 6ab, 15bb	GPIIb/IIIa
	父亲	15bb	
9	患儿	5ab	
	母亲	15ab	GPIa/IIa 抗-5b
	父亲	3ab, 5ab	

表 3 5 例由于 HLA 及 HPA 血型不合引起 NAIT 的结果分析

Tab.3 The analysis of five cases of neonatal alloimmune thrombocytopenia caused by HLA and HPA incompatibility

序号		HLA-A	HLA-B	HLA-DR	抗-HLA	HPA1-17(无列出者均为 aa 纯合子)	抗-HPA (PLUS/AUTO)
10	患儿	26, 33 (19)	40 (60), 56	09, 13	-A19-B22	1ab, 3ab, 15ab	全+
	母亲	11, 26	27, 40 (60)	09, 14		15bb	(自身抗体)
	父亲	30, 33	13, 56	13, 15		3ab	
11	患儿	02, 11	07, 54	10, 14	-B39	全 a	全+
	母亲	11, 11	27, 54	12, 14		全 a	(自身抗体)
	父亲	02, 11	07, 39	08, 10		全 a	
12	患儿	02, 11	15 (75), 46	08, 13	-A3, 19, -B40	3ab, 5ab, 15ab	GPIIb/IIIa
	母亲	11, 33 (19)	15 (75), 58	03 (17), 13		3bb, 15ab	(抗-3a)
	父亲	02, 11	46, 46	08, 15		3ab, 15ab	
13	患儿	02, 02	38, 46	04, 12	-A11, 19; -B7, 27, 40	3ab, 15bb	GPIIb/IIIa
	母亲	02, 11	38, 46	12, 14		15ab	(抗-3b)
	父亲	02, 24	46, 75	04, 12		3bb, 15ab	
14	患儿	02, 11	51, 61	12, 16		3bb	GPIIb/IIIa
	母亲	11, 33 (19)	51, 58	12, 12	-A19, -B46	3ab	(抗-3a)
	父亲	02, 11	46, 61	09, 16		3bb	

讨论:

新生儿免疫性血小板减少症 (neonatal immune thrombocytopenia, NIT) 是新生儿期较常见且严重的血液系统疾病, 在危重新生儿中的发病率占 20%~40%, 主要分为同种免疫性 (neonatal alloimmune thrombocytopenia, NAIT)、被动免疫性及自身免疫性血小板减少症 (autoimmune thrombocytopenic purpura, AITP)。血小板抗体一部分来自母体, 一部分因新生儿的免疫系统处在逐渐完善阶段, 识别能力等问题对吸附多种抗原的血小板产生自身抗体。NAIT 患儿可在出生后数小时内出现血小板减少、全身出血性紫癜, 严重者可致死亡, 死亡率约为 14%。

本研究发现, 患儿发病与母婴 HLA、HPA、HLA 和 HPA 血小板血型不合有关, 患儿母亲均有妊娠史、输血史或自身免疫性疾病。NAIT 可分为由于抗-HLA、抗-HPA 及抗-HLA+HPA 抗体引起, 如表 3 患儿 12, 为肝脾肿大、反复输血的血小板减少患儿, 该患儿的抗 HLA-A19 是由于母婴 HLA 血型不合产生, 而抗 HLA-A3、-B40 则由于输注过含此抗原的献血员血液刺激产生抗体 (患儿母亲有输血史); HPA 检测 (PAK-PLUS) 发现 GPIIb/IIIa 为阳性, 患儿血小板上有来自父亲的 HPA-3a, 而母亲为 HPA-3bb, 血小板血型不合刺激母体产生抗 HPA-3a 抗体, 此两种抗体经胎盘进入胎儿循环系统导致 NAIT。本次研究中检测出的抗 HLA-A2、19, -B40 及抗 HPA-3a, 均与本实验室既往检测出广东人群高频 HLA、HPA 抗体的分布相符。

在本次研究中,同种免疫性(抗-HLA+HPA 抗体)、被动免疫性及自身免疫性因素引起的 NIT,主要发生于 ITP/系统性红斑狼疮(SLE)及反复流产的母亲和 ITP 患儿中。SLE 是好发于育龄妇女的自身免疫性疾病,妊娠后 10%~30% 患者出现病情复发、加重,并发症增多,胎儿预后不良。ITP 是临床常见的出血性疾病,是由自身抗体致敏的血小板被单核巨噬细胞系统破坏所致。王兆钺等研究发现,约 50%~60% 的 ITP 患者血小板表面包被有 IgG 自身抗体,主要针对血小板膜糖蛋白上的 GP II b/IIIa 或 GP I b/IX,与抗体结合的血小板破坏增加、寿命缩短,导致血小板减少及出血症状。在本次选取的 22 例 NIT 患儿中,2 例 ITP 患儿母亲为 ITP/SLE 患者并反复流产,母体经多次妊娠诱发回忆性免疫应答,刺激产生的 HLA 抗体通过胎盘导致新生儿出现被动免疫性血小板减少症;6 例为自身免疫性血小板减少症,经血小板抗体(PAK-AUTO)检测均由 HPA 自身抗体引起,其中 ITP 5 例,再障 1 例。在本次研究的 22 例患儿中,主要以 GP II b/IIIa 抗体引起的 NAIT 为主,而 GP I b/IX 少见,这与以往的报道相同,这主要是由于 GPIb α 抗体引起的病理改变严重,以致胎儿流产导致抗体无法检出。在临床上,静脉注射免疫球蛋白及类固醇激素治疗由 GP II b/IIIa 抗体引起的 ITP 疗效较好,免疫球蛋白及抗 FcRn 治疗能预防由抗 GPIb α 引起的流产,但其中以抗 FcRn 治疗的效果更佳。由此可见,在高危孕妇中,检测母婴 HLA/HPA 血型,对患儿的诊断和治疗均有非常重要的意义。

本次研究结果发现,曾有反复流产史、患 ITP/SLE 的孕妇,以及有输血史/患 ITP 的孕妇,发生新生儿免疫性血小板减少症的比例较高,其中以同种免疫性因素引起为主。因此,曾有反复流产史、患 ITP/SLE 的育龄妇女,可在怀孕前进行夫妻双方的血小板相关抗体检测,对由于母婴血小板血型不合而导致的流产或 NAIT,进行早期的诊断和治疗。

10 《国内首例抗 HPA-5b 引发的 NAITP 的检测、诊断及分析》

作者:周燕,钟周琳,李丽兰,申卫东,吴国光

来源:中国实验血液学杂志 2014;22(2):399-402

摘要:本研究旨在探讨抗 HPA-5b 抗体引发的新生儿同种免疫性血小板减少性紫癜(NAITP)的实验检测及临床诊断。临床监测患儿血小板计数及其他临床表现;多重 PCR 及 DNA 测序检测患儿及其父母 HPA-1-21bw 系统基因型;流式细胞术(FCM)和血小板抗原单克隆抗体特异性免疫固定检测技术(MAIPA)检测及鉴定患儿及其母亲血清中的血小板特异性抗体。结果表明:患儿临床症状较轻,基因分析显示患儿为 HPA-5ab,父亲为 HPA-5ab,母亲为 HPA-5aa;患儿母亲血清中含与父亲血小板反应的血小板特异性抗体为抗 HPA-5b 抗体。结论:该病例为抗 HPA-5b 抗体引起的新生儿同种免疫性血小板减少性紫癜。

病例:新生女婴因其母重度子痫前期,并胎儿窘迫于 35⁺3W 剖腹产出生。其母无输血史,孕 5 产 2,所生第一胎孩子体健,出生时无血小板减少等症状,随后三胎均为人工流产。女婴出生 1、5、10 min Apgar 评分均为 10 分。女婴出生时皮肤无紫绀、无发花,亦无瘀点、瘀斑;血小板计数为 $100 \times 10^9/L$,第 2 天血小板下降至 $96 \times 10^9/L$,最低降至 $83 \times 10^9/L$ 。疑为 NAITP 而送检。

主要试剂:HPA-5bb 冻干血小板抗原谱细胞(批号 GTI-RK)由美国 GTI DIAGNOSTICS 公司惠赠。基因型分别为 HPA-1aa/1bb、HPA-2aa/2bb、HPA-3aa/3bb、HPA-4aa/4ab、HPA-5aa/5ab、HPA-6aa/6bb、HPA-15aa/15bb 的新鲜血小板抗原谱细胞均由本实验室制备。多重 PCR 人类血小板抗原 HPA 分型试剂盒由美国 G&T 公司提供。

讨论:

母亲血清与基因型为 HPA-5ab、HPA-5bb 的血小板抗原谱细胞及父亲血小板反应,与基因型为 HPA-5aa 血小板抗原谱细胞不反应,证实母亲血清含有抗 HPA-5b 抗体。HPA 基因分型及测序结果显示患儿与其父亲均为 HPA-5ab,而其母为 HPA-5aa。根据患儿及其父母的血小板免疫学检测和分子生物学检测结果,以及患儿血小板计数下降等症状,诊断证实该患儿为抗 HPA-5b 引起的 NAITP。

国外资料显示,抗 HPA-5b 抗体引起 NAITP 的频率仅次于抗 HPA-1a,其危害性及临床表现不及抗 HPA-1a 严重,较少引起患儿颅内出血及神经系统损伤,血小板计数一般 $>50 \times 10^9/L$ 。本例患儿临床表现及体征没有我们曾经报道过的抗 HPA-3a 抗体导致的 NAITP 严重,在整个患病过程中皮肤均无瘀点瘀斑出现,亦无出血倾向,血小板计数一直 $>80 \times 10^9/L$,与国外报道的病例相似,给予该患儿静脉注射人免疫球蛋白后血小板上升至 $118 \times 10^9/L$,病情好转后予以出院。

在本研究中,除了使用新鲜血小板抗原谱细胞,亦使用了基因型别为 HPA-5bb 冻干血小板抗原谱细胞进行检

测，结果亦能成功检测出抗 HPA-5b 抗体，提示 HPA-5 抗体的检测无须像检测 HPA-15 抗体一样必须全部使用新鲜血小板抗原谱细胞，可以选用冻干或是冰冻血小板抗原谱细胞。同时，我们发现使用纯合子（HPA-5bb）血小板抗原谱细胞的检测吸光度值较使用杂合子（HPA-5ab）的高，提示在挑选血小板抗原谱细胞时，应尽量选择纯合子作为血小板抗原谱细胞，以提高血小板抗体检出率。

11 《母婴血小板血型不合致新生儿血小板减少症的试验诊断》

作者：孙国栋 于红艳 尹志柱 牛小利 魏淑梅 王志梅

来源：中国输血杂志 2011 年 12 月第 24 卷第 12 期

摘要：目的：探讨新生儿同种免疫性血小板减少症（NAIT）的试验诊断方法。**方法：**采用常规凝集试验进行红细胞血型系统相关检测，采用 MASPAT 试剂盒单克隆抗体固相血小板抗体实验进行血小板特异性抗体鉴定，采用酶联免疫（ELISA）方法进行 HLA- I 类抗体检测，同时用 PCR-SSP 方法进行被检者 HPA 基因分型。**结果：**虽然母亲为 RhD（-）且既往有多次妊娠史，但无 Rh 系新生儿溶血病血清学表现，母亲 HPA 基因型为 HPA15a/15a，父亲和患儿基因型均为 HPA15a/15b。相关试验证实既有 HLA- I 类抗体，也有血小板特异性体抗 HPA-15b。**结论：**按照本系列试验方案进行检测，能够对引致 NAIT 的血小板抗体进行筛查分类，并为 NAIT 的科学准确诊断及治疗提供依据。

对象：患儿，男，DCcee，O 型。母亲，RhD（-），ccce，O 型，G3P2。产后 1h 送母亲及新生儿标本来本站（邯郸市中心血站），经查无 Rh 系新生儿溶血病血清学表现，临床观察数日无新生儿溶血病体征。患儿出生后精神反应欠佳，6d 后背部前胸出现针尖样出血点，压之不退，继而全身出现散在出血点，血象检查：WBC $15.5 \times 10^9/L$ 、RBC $4.04 \times 10^{12}/L$ 、Hb 142g/L、Plt $18 \times 10^9/L$ 、肝脾肿大。送本中心进行血小板抗体检查，结果为患儿血样本中同时含有 HLA- I 类抗体和血小板特异性抗体，通过对症治疗，输注白蛋白、丙种球蛋白、小剂量强的松，患儿出生 30 d 后，血小板升至正常。

主要试剂：血小板 1-17 基因分型试剂盒、血小板抗体检测试剂盒（长春博德生物技术有限责任公司）。HLA- I 类抗体筛检试剂盒（德国 Biotest 公司）。

HPA 基因分型结果：

1）患儿及其母亲和父亲基因分型结果（表 1，图 1）。患儿与父亲完全相同，母亲与父亲（患儿）HPA 基因分型仅 HPA-15 不同，母亲为 15a/15a，父亲与患儿为 15a/15b。

表 1 患者父亲(同患儿)与母亲 HPA1-17 分型结果

	HPA1	HPA2	HPA3	HPA4	HPA5	HPA6	HPA7	HPA8	HPA9	HPA10	HPA11	HPA12	HPA13	HPA14	HPA15	HPA16	HPA17
母亲	aa	aa	ab	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa
父亲(患儿)	aa	aa	ab	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	aa	ab	aa	aa

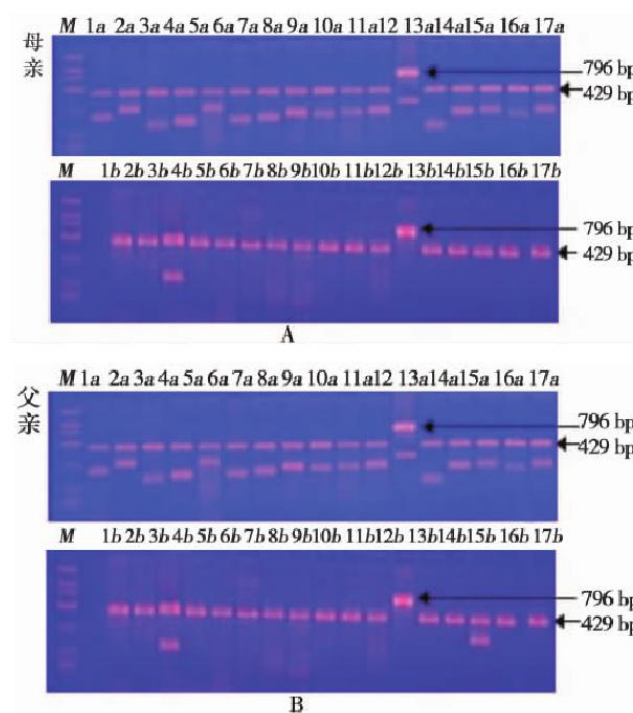


图 1 患者父母亲 HPA 1-17 分型结果

M: DNA 分子量 除 12a/12b 内对照产物为 796bp 外, 其余内对照产物均为 429bp, A 上母亲 HPA 1a-17a 均出现特异性条带, 为阳性; A 下 HPA 1b-17b 中除 3b 出现特异性条带外, 均为阴性; B 上父亲 HPA 1a-17a 均出现特异性条带, 为阳性, B 下 HPA 1b-17b 中除 3b、15b 出现特异性条带外, 均为阴性

2) 用于筛查抗体的 3 个筛选细胞的 HPA 基因分型结果见表 2, 3 个细胞在中国人群中最具杂合度的 HPA-3, -15 系统基因型有明显不同。

表 2 用于抗体筛选细胞 HPA 基因分型结果

	HPA-1	HPA-2	HPA-3	HPA-4	HPA-5	HPA-15
供者 1	aa	aa	aa	aa	aa	aa
供者 2	aa	aa	bb	aa	aa	ab
供者 3	aa	aa	ab	aa	aa	bb

HLA- I 类抗体检测结果: ELISA 方法检测, 此标本为弱阳性结果, 含有 HLA-I 类抗体。

血小板特异性同种抗体分析: 磷酸氯喹处理前后, 患者血清与筛查血小板反应结果证实, 患者不仅含有 HLA- I 类抗体, 而且含有 HPA-15b 抗体。反应结果见表 3。

表 3 磷酸氯喹处理前后患者血清筛查结果

	供者 1	供者 2	供者 3
PBS-EDTA-BSA 处理的对照组血小板	2 +	2 +	+ ^w
二磷酸氯喹处理血小板	±	±	1 +

讨论:

NAIT 病情变化大, 表现为广泛性出血点、瘀斑、血肿, 尤以骨骼突出部或受压部位明显。严重病例同时出现内脏出血, 颅内出血患儿可出现抽搐、呼吸困难、发绀等。本病为自限性疾病, 随着来自母体的抗体逐渐减少和消失, 病情自行痊愈。出血不多者数天后好转。严重病例常合并颅内出血, 是死亡的主要原因, 病死率达 13%。国外关于血小板特异性同种抗体引致 NAIT 相关报道较多, 已被证实有 HPA-1 (a, b), HPA-2 (a, b), HPA-3 (a, b), HPA-4 (a, b), HPA-5 (a, b), HPA-8bw, HPA-9bw, HPA-12bw, HPA-13bw, HPA-14bw, HPA-15b 可以引起 NAIT。

国内关于 HPA-15b 抗体引起 NAIT 的报道较少, Moncharmont 在一 NAIT 患儿的母亲血清中发现 HPA-15b 抗体,

母亲 HPA 基因型为 HPA15a/15a, 患儿基因型为 HPA15a/15b, HPA-15b 抗体引致重症 NAIT。Matsushashi 报道在 NAIT 患儿母亲体内发现 HPA-15b 抗体, 但是由于母子 HPA 基因型均为 HPA15a/15a, 同时母亲含有 HLA- I 类抗体, 认为是 HLA- I 类抗体所致 NAIT。

能否有效检出血小板抗体对诊断和预防新生儿免疫性血小板减少性疾病具有重要的价值。针对这一病例, 我们设计了系列检测方案, 应用血型血清学及分子生物学 PCR-SSP 等检测技术对其分析鉴定。首先对待检者标本进行 HPA 基因分型, 以判断其产生血小板特异性同种抗体的可能, 如果父母或母子之间 HPA 基因分型不同, 有产生抗体可能, 则通过基因定型寻找适合的供筛检血小板细胞。同时, 进行 HLA- I 抗体检测, 在确定含有 HLA- I 抗体后, 通过磷酸氯喹处理供筛检血小板膜表面 HLA- I 抗原, 来比较处理前后与受检者血清反应情况, 进一步判断是否有血小板特异性同种抗体及抗体种类。通过这一系列检测手段, 可以明确造成 NAIT 的抗体类别及种类, 并能够为患者选择相配合血液输注, 为 NAIT 的科学准确诊断及治疗提供依据。

12 《1 例新生儿血小板减少症患儿发现 HPA-21bw 等位基因报告》

作者: 周豪杰, 邓晶, 丁浩强, 聂咏梅

来源: 免疫学杂志 2013 年 6 月第 29 卷第 6 期

摘要: **目的:** 调查新生儿血小板减少症患儿是否携带人类血小板抗原 HPA-21w 等位基因。**方法:** 对 20 例新生儿血小板减少症患儿及其母亲采用 DNA 测序方法进行 HPA-21bw 基因分型。**结果:** DNA 测序表明 1 例新生儿血小板减少症患儿 GPIIIa 编码基因 1960 位为 G/A 双峰, 为 HPA-21a/b 杂合子; 而其母亲为 HPA-21a/a 纯合子(1960G/G), 与患儿 HPA-21bw 不配合。其余患儿及母亲 DNA 样本经测序, GPIIIa 编码基因 1960 位均为 G/G 单峰, 基因型均为 HPA-21a/a 纯合子。**结论:** 在新生儿血小板减少症患儿中首次检出 HPA-21bw 等位基因, 提示 HPA-21bw 抗原是中国人引起新生儿同种免疫性血小板减少症的潜在抗原位点。

测序方法: 参照 GPIIIa 编码基因序列(GenBank 注册号 AC068234), 采用 Primer Premier 5.0 软件设计包含 HPA-21bw SNP 位点的 PCR 引物, 在 PTC-200 扩增仪(Bio-Rad, USA)进行 PCR 反应, 采用 PCR 纯化试剂盒(Millipore)纯化 PCR 产物; 随后每个纯化产物分别采用正反向引物进行双向测序 PCR 反应, 测序 PCR 产物在 ABI 3130XL 测序分析仪进行毛细管电泳测序。

讨论:

该名 HPA-21a/b 杂合子患儿为出生 3d 女婴, 血型 B 型, Rh 阳性; 其母亲 31 岁, 血型 O 型, Rh 阳性。

HPA-21bw 又称为血小板 Nos 抗原, 是由 Peterson 等于 2010 年在 1 例美国 NAIT 病人家系中首次报道, 其多态性是由于 GPIIIa 编码基因 1960 位 G>A 单核苷酸取代, 导致 GPIIIa 蛋白 628 位谷氨酸被赖氨酸取代而引起。HPA-21bw 由于未能检出对偶 a 抗原而属于非系统 HPA 抗原(包括 HPA-6w 至-14w 以及 HPA-16w 至-27w)。非系统 HPA 抗原均为低频抗原, 呈现出家族个体性的特点, 在临床中主要表现为由于胎儿携带了父亲的 HPA 抗原而与母亲不配合, 导致母亲对胎儿的同种免疫而诱发 NAIT。因此非系统 HPA 抗原主要与 NAIT 有关, 而在血小板输注中不配合的几率较小。

Peterson 等对美国人群的调查未能检出 HPA-21bw 等位基因(0/100); 另一项调查显示 HPA-21bw 在日本人群中存在等位基因分布(0.53%, 10/1888), 并且在日本人群中发现有 3 例 NAIT 由 HPA-21bw 同种免疫引起。随后 Peterson 等在美国进行的一项多人群调查显示在美国黑人、高加索人和拉丁裔人群均未检出 HPA-21bw 等位基因, 但在亚裔人群存在 HPA-21bw 等位基因分布(0.56%, 6/531); Peterson 等还发现 1 例亚裔 NAIT 病例与 HPA-21bw 同种免疫有关。研究表明, HPA-21bw 在亚裔人群并不局限于个别 NAIT 家系, 而在普通人群中存在等位基因人群分布, 因此 HPA-21bw 可能是亚裔人群的 1 个特征抗原, 并且是亚裔人群引起 NAIT 的一个重要的潜在抗原位点。国内有研究人员采用 DNA 测序方法进行 HPA-21bw 人群调查, 发现 HPA-21bw 在汉族人群中存在等位基因分布(0.94%, 16/1710), 因此 HPA-21bw 同种免疫很可能也是中国人群 NAIT 的诱因之一。

本研究采用 DNA 测序方法对 20 例新生儿血小板减少症患儿及其母亲进行了回顾性分析。结果在 20 例患儿中发现 1 例为 HPA-21a/b 杂合子, 携带 HPA-21bw 等位基因, 这是国内首次在新born 血小板减少症患儿检出 HPA-21bw 等位基因, 测序 DNA 序列已在 GenBank 注册; 其母亲测序分型为 HPA-21a/a 纯合子, 因此表现为和患儿 HPA-21bw 不配合, HPA-21bw 同种免疫可能是患儿血小板减少的原因之一。但由 HPA 同种免疫诱发 NAIT 的确证需要检测到 HPA 同种抗体。作为低频 HPA 抗原, HPA-21bw 血清学检测也受到患者血小板以及抗血清难以获得

的限制，并需要构建真核表达细胞系检测同种抗体。目前仅在报道 HPA-21bw 同种免疫诱发 NAIT 的实验室，进行了 HPA-21bw 血清学检测，并分别构建了转染细胞系检测 HPA-21bw 同种抗体。由于本项回顾性研究仅能获得母婴双方 DNA 样本，仅能获得基因型证据，而无法提供血清学和同种抗体检测依据，因此不能确诊该名患儿为 HPA-21bw 同种免疫所致的 NAIT。

HPA-21bw 同种免疫可以诱发严重 NAIT，人群研究也已证实 HPA-21bw 在中国人群存在等位基因分布。本研究则在新生儿血小板减少症患者中检出 HPA-21bw 等位基因，并与其母亲抗原不匹配，提示 HPA-21bw 是中国人群诱发 NAIT 的 1 个重要的潜在位点，在临床实践中值得关注。因此在中国家庭疑似 NAIT 的诊断中，有必要对母婴双方常规进行 HPA-21bw 基因分型，并在出现不匹配时进行 HPA-21bw 同种抗体检测。

13 《Noninvasive prenatal diagnosis by cell-free DNA screening for fetomaternal HPA-1a platelet incompatibility》

《通过细胞游离 DNA 筛查胎母 HPA-1a 血小板不相容的无创产前诊断》

作者：Ferro M, Macher HC, Fornés G, et al.

来源：Transfusion. 2018 Oct;58（10）:2272-2279.

摘要：背景：开发新的无创方法来诊断 HPA-1 胎母不相容逐渐成为热点话题。这些方法使我们可以确定胎儿是否与母亲不相容，并决定产前治疗以避免胎儿或新生儿同种免疫性血小板减少症（FNAIT）。本研究的目的是检测 HPA-1 纯合子母亲后，利用血浆细胞游离 DNA（cfDNA）进行快速、无创产前 HPA-1ab 胎儿抗原检测。**研究设计和方法：**采用高分辨率溶解（HRM）聚合酶链反应（PCR）方法对 142 例孕妇和 17 例未怀孕对照的 HPA-1 基因型进行回顾性检测。对所有 HPA-1bb 孕妇 cfDNA 进行低变性温度下共扩增（COLD）HRM PCR，以确定胎儿基因型。**结果：**HRM 分析后发现以下基因型：HPA-1aa（71.13%）、HPA-1bb（2.8%）、HPA-1ab（26.06%）。4 名 HPA-1bb 纯合孕妇怀有一个不相容的胎儿。采用 HRM COLD-PCR 对这些母亲的血浆样本进行分析。怀有 HPA-1ab 杂合子胎儿的 HPA-1bb 纯合子孕妇与 HPA-1ab 或 HPA-1bb 对照组可以区分开来。因此，COLD-PCR 分析可以检测纯合子母亲妊娠最初几周的 HPA-1ab 杂合子胎儿。**结论：**HPA-1bb 纯合子孕妇的胎儿基因型早在妊娠 12 周即可通过无创产前检查检测出来。

表 1 使用 HPA-1bb 纯合子母亲 cfDNA 分析胎儿基因型不同方法的比较

Samples	Mother	Fetus			
		Conventional HRM	COLD-HRM	Sequencing HRM/ COLD-HRM	Cord sample
1	bb	bb	ab	bb/ab	ab
2	bb	bb	ab	bb/ab	ab
3	bb	bb	ab	bb/ab	NA
4	bb	bb	ab	bb/ab	ab

NA = not available.

14 《Prediction of fetal blood group and platelet antigens from maternal plasma using next-generation sequencing》

《利用下一代测序从母体血浆中预测胎儿血型 and 血小板抗原》

作者：Orzińska A, Guz K, Mikula M, et al.

来源：Transfusion. 2019 Mar;59（3）:1102-1107.

摘要：背景：母亲已产生红细胞（RBC）或血小板抗原抗体的胎儿，只有遗传了不相容抗原，才有分别患溶血性疾病或同种免疫性血小板减少症的风险。胎儿抗原的无创诊断已用于免疫妊娠的管理，但编码大多数抗原的 SNPs 在母体血浆中的特异性检测仍然是一个挑战。我们应用靶向下一代测序（NGS）在检测胎母嵌合的基础上预测胎

儿抗原。**方法和材料：**使用针对编码 RhD, RhC, Rhc, RhE/e, K/k, Fya/b, Jka/b, MN, Ss, HPA-1, 2, 3, 5, 15 和 4 个 X 多态性的区域设计的引物，在 Ion Torrent PGM 系统上，对 13 例孕妇（携带抗 K [3 例]、抗 k [1 例]、抗 Fya [1 例]、抗 D + C + Jka [1 例]、抗 D + E + K [1 例]、抗 HPA-1a [1 例]、抗 HPA-3b [1 例]、抗 HPA-5b [1 例]、未免疫[3 例]）的 DNA 进行测序。**结果：**NGS 结果与妇女及其新生儿的表型/基因型一致（除 MN 和 RhC 检测不成功外）。NGS 测定了胎儿等位基因嵌合情况：K、k、Fya、Fyb、Jka、Jkb、S、RhE 从 0.42%到 6.08%，RhD 和 Rhc 都是 100%，HPA-1a, -2b, -3a, 3b, -5b, -15a, 15b 从 0.23%到 4.11%。在 7 例免疫病例中，NGS 显示胎儿有不相容抗原嵌合（0.7% ~ 4.8%），排除 3 例（携带抗 K、抗 Fya、抗 HPA-3b）。**结论：**设计的 NGS 可普遍预测携带各种有临床意义抗体的孕妇胎儿红细胞和血小板抗原状态，并可证实胎儿 DNA 的存在。然而，需要对不成功的引物进行一些改进。

15 《A new efficient tool for non-invasive diagnosis of fetomaternal platelet antigen incompatibility》

《无创诊断胎母血小板抗原不相容的新有效工具》

作者：Ouzegdouh Mammasse Y, Chenet C, Drubay D, et al.

来源：Br J Haematol. 2020 Sep;190（5）:787-798.

摘要：胎儿和新生儿同种免疫性血小板减少症（FNAIT）是母体抗胎儿 HPA 同种抗体破坏血小板的结果。这可能导致颅内出血（ICH），甚至胎儿死亡。目前，胎儿 HPA 基因分型是通过侵入性程序进行的。在这里，我们开展了一项概念验证研究，利用从 47 名疑似或有 FNAIT 病史的孕妇血浆中提取的细胞游离 DNA，通过微滴式数字 PCR（ddPCR）进行四种 HPA 系统（HPA-1、-3、-5 和 -15）的胎儿血小板基因分型的无创产前诊断。结果显示，74%（35/47）的孕妇出现至少一个 HPA 系统的不相容，38%（18/47）的孕妇出现 HPA-1 不相容，其中 9 例出现多个不相容。1 例 HPA-15 不相容的严重胎儿血小板减少病例发生 ICH，证实了除 HPA-1 外的系统需要非侵入性产前基因分型。羊膜穿刺或分娩后，ddPCR 预测的胎儿 HPA 基因型在所有 FNAIT 病例中均得到证实。基于 ddPCR 对母体血浆进行胎儿 HPA 基因分型是一种快速、安全、可靠的无创检测方法。这项技术将有助于早期识别需要产前管理以最大限度地减少胎儿/新生儿出血风险的 FNAIT 高风险妊娠。

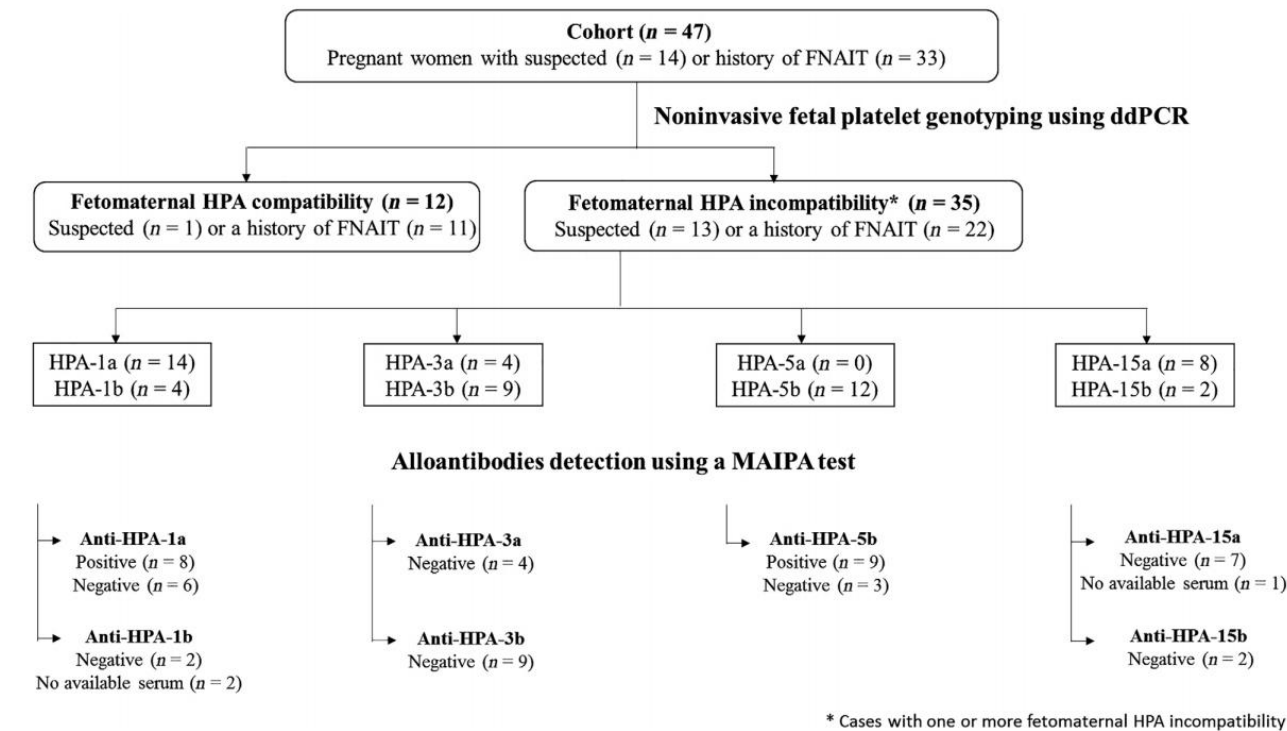


图 3 队列的胎母 HPA 不相容和血清学结果小结

16 《Antiendothelial $\alpha v \beta 3$ Antibodies Are a Major Cause of Intracranial Bleeding in Fetal/Neonatal Alloimmune Thrombocytopenia》

《抗内皮 $\alpha v \beta 3$ 抗体是胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症颅内出血的主要原因》

作者: Santoso S, Wihadmadayati H, Bakchoul T, et al.

来源: Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2016 Aug;36 (8) :1517-24.

摘要: **目的:** 胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症是一种严重的出血疾病, 可导致颅内出血 (ICH), 导致死亡或神经系统后遗症。在白种人中, 母体抗 HPA-1a 抗体是大多数病例的病因。目前尚无 ICH 的预测因素来指导妊娠期预防治疗。在这项研究中, 我们调查了 ICH 阳性胎儿/新生儿同种免疫血小板减少症和 ICH 阴性胎儿/新生儿同种免疫血小板减少症母亲的抗体, 以确定两组之间的血清学和功能差异。**方法和结果:** 在抗原捕获试验中, 我们观察到 ICH 阳性抗体与内皮细胞来源的 $\alpha v \beta 3$ 有更强的结合。通过吸收实验, 我们随后在 ICH 阳性队列中鉴定出抗 $\alpha v \beta 3$ 特异性的抗 HPA-1a 抗体, 而在 ICH 阴性队列中未发现。只有抗 $\alpha v \beta 3$ 亚型, 而非抗 $\beta 3$ 亚型, 通过半胱天冬酶-3/7 活化以及活性氧介导, 诱导 HPA-1a 阳性内皮细胞凋亡。此外, 只有抗 $\alpha v \beta 3$ 亚型, 而非抗 $\beta 3$ 亚型, 干扰了内皮细胞与玻连蛋白的粘附和内皮细胞管的形成。**结论:** 我们认为母亲的抗 HPA-1a 抗体亚型的组成可能决定 ICH 是否发生。分析母体血清中抗 $\alpha v \beta 3$ 亚型的抗 HPA-1a 抗体有可能用于 ICH 的诊断预测, 并可能为胎儿/新生儿同种免疫性血小板减少症的预防治疗提供参考。

17 《Glycosylation pattern of anti-platelet IgG is stable during pregnancy and predicts clinical outcome in alloimmune thrombocytopenia》

《妊娠期抗血小板 IgG 的糖基化模式是稳定的并可预测同种免疫性血小板减少症的临床结果》

作者: Sonneveld ME, Natunen S, Sainio S, et al.

来源: Br J Haematol. 2016 Jul;174 (2) :310-20.

摘要: 胎儿或新生儿同种免疫性血小板减少症 (FNAIT) 是一种潜在的威胁生命的疾病, 胎儿血小板被母体抗血小板 IgG 同种抗体破坏。从无症状到瘀点或颅内出血, 临床结果各不相同, 但没有任何指标显示出与严重程度的可靠相关性, 这使得 FNAIT 筛查不现实且效率极低。我们最近发现, 针对血小板和红细胞抗原的 IgG Fc 糖基化倾向于岩藻糖基化减少, 半乳糖基化和唾液酸化增加。核心岩藻糖基化减少增加了致病抗体对 $Fc \gamma RIIIa$ 和 $Fc \gamma RIIIb$ 的亲合力, 从而破坏血小板。在此, 我们用质谱分析了 HPA-1a 特异性 IgG1 的 N 连接聚糖, 纳入大量 FNAIT 病例 ($n = 166$), 包括纵向样本 ($n = 26$)。除了第一次妊娠后 Fc 岩藻糖基化水平显著下降 ($P = 0.0124$), Fc 糖基化水平在妊娠期间、妊娠后和随后的妊娠中保持稳定。多因素 logistic 回归分析发现, 抗 HPA-1a 岩藻糖基化 ($P = 0.006$)、半乳糖基化 ($P = 0.021$) 和抗体水平 ($P = 0.038$) 与出血严重程度相关, 使这些参数成为筛查 FNAIT 重症病例的可行指标。

下期主题：HPA 临床意义专刊-血小板输注无效



为中国血型基因检测贡献力量!!!
为人民服务!!!



天津秀鹏生物微信公众平台
与您分享专业的体外诊断信息

更多内容请登录秀鹏生物网站
www.biosuper.com