

中国稀有血型系统专刊

2020 年 7 月

编者导读:

随着国策二胎的实行,有多次妊娠史的高龄孕妇、“稀有血型”孕妇逐渐增多,母婴血型不合导致的新生儿溶血病(HDN)/新生儿胎儿溶血病(HDFN)成为目前新生儿科常见的疾病。目前临床上对于 ABO 血型不合导致的 HDN/HDFN 基本都能做到早诊断,及时治疗。但对于 ABO 以外血型抗体,即不规则抗体所致的 HDN/HDFN 却未能有效及时的处理。然而这类 HDN/HDFN 往往风险也很大,相应的输血治疗措施更复杂。临床上应加强孕妇(特别是有过多次妊娠或输血史的孕妇)产前检查,及时预防和治疗,对于少见的抗体多思考,使用多种方法进行检测,并建立起稀有血型库,尽量做到同表型输注,建立起预防 HDN/HDFN 发生的预警网络。

输血反应是指输血过程中或输血后出现的异常表现或疾病,轻者出现皮疹、荨麻疹、皮肤瘙痒等身体不适反应,重者可引起脏器损害、过敏性休克甚至死亡。临床根据反应发生原因的不同,将输血反应分为免疫性和非免疫性;根据反应发生的缓急情况,将输血反应分为急性和迟发性。随着现代临床输血技术的不断发展,ABO 血型不合导致的输血反应发生率已显著降低,红细胞不规则抗体引起的免疫性溶血性输血反应(HTR)成为临床输血关注的热点。当前,由于医疗技术的发展,出现越来越多的多次输血的患者,使得许多以前少见的不规则抗体出现逐渐增多的趋势,因此需要在日常临床输血工作中对不规则血型抗体的检测予以足够重视,采取更灵敏的实验技术,防止因漏检而导致 HTR 的发生。

稀有血型的个体一旦通过妊娠或输血免疫刺激产生了抗高频抗原的抗体,血清学水平进行不规则抗体鉴定极为困难。比如,目前国内谱细胞(上海血液生物医药有限公司等)和国外谱细胞(Immucor、Sanquin、Oxiod 等)均不包含 Di(b-)细胞,且无商品化抗 Dib,这给患者血型及抗体鉴定带来了困难。因此建立稀有血型分子分型技术来辅助进行血型鉴定十分必要。我国是个多民族的地域广阔的国家,很多稀有血型中复杂多样的突变机制尚不明确,对于中国人群中稀有血型基因的遗传背景研究有待深入。

本月期刊检索了国内外公开报导的中国作者的稀有血型系统相关多篇优秀文献,就中国人群存在的稀有血型抗体导致 HDN (1-7)/HTR (8-9)、抗体筛查(10-14)、新位点(15-18)及个例报道(19-22)进行归纳汇总,以便阅读,本期刊最后附表总结了中国各地区的稀有血型系统抗体筛查情况。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 22 篇文献，主要内容如下（前 6 个血型系统按文献 12 抗体频率由高到低排序）：

- (1) MNS: 9 篇（2/3/4/8/10/11/12/13/14）
- (2) Lewis: 9 篇（2/7/8/9/10/11/12/13/14）
- (3) Kidd: 11 篇（2/4/6/7/8/12/13/14/15/16/19）
- (4) Duffy: 5 篇（2/4/12/13/14）
- (5) Diego: 9 篇（1/2/5/7/11/12/13/14/20）
- (6) Kell: 3 篇（12/13/17）
- (7) P1PK: 4 篇（10/12/13/22）
- (8) H/I: 5 篇（8/10/13/14/18）
- (9) Lutheran: 2 篇（12/13）
- (10) Landsteiner-Wiener: 1 篇（21）
- (11) Xg: 1 篇（13）

中国不同地区同种抗体的总频率

Table 4. The frequency of alloantibodies in different regions of China

Regional Specificities of population	Guangxi			Hubei (Xu <i>et al.</i> , 2014) Han people	Shenyang (Wang <i>et al.</i> , 2012) Surgical patients	Hong Kong (Lee <i>et al.</i> , 2003) Pregnancy women
	Han people	Zhuang people	Other ethnicity			
Total number	12 469	7018	796	42 517	18 980	21 327
Number of alloantibody	91	68	7	212	39	137
Alloantibody frequency (%)	0.73	0.97	0.88	0.50	0.21	0.64
P-value	<0.001					

注：此表源于文献 14

目录

1 《抗 Dia 引起的新生儿溶血病及家系 Diego 血型基因研究》	4
2 《Rh、MNS 等血型系统不规则抗体导致 HDN 的实验室检测分析》	5
3 《Hemolytic disease of the fetus and newborn due to alloanti-M: three Chinese case reports and a review of the literature》	6
4 《不规则抗体致新生儿溶血病的实验检测结果分析》	7
5 《抗 Dib 血型不合引起单卵双胞胎新生儿溶血病 1 例》	7
6 《罕见抗 JK3 引起新生儿溶血病及家系 Kidd 血型基因研究》	9
7 《不规则抗体致新生儿溶血病换血治疗的研究分析》	11
8 《临床输血不良反应和免疫产生意外抗体的分析》	11
9 《凝聚胺漏检抗 Lea 致溶血性输血反应 1 例》	12
10 《孕妇产前红细胞血型不规则抗体筛查及鉴定分析》	13
11 《7381 例孕妇产前不规则抗体检测特异性分析及临床意义》	13
12 《Unexpected red blood cell antibody distributions in Chinese people by a systematic literature review》	14
13 《1994-2013 年中国患者人群红细胞同种抗体阳性率及特异性分析》	16
14 《Prevalence and specificity of RBC alloantibodies in the general hospitalised population in Guangxi》	16
15 《Kidd 血型系统 JK 基因非编码区 3 个新突变位点的多态性》	17
16 《Molecular Genetic Analysis of the Jk(a-b-) Phenotype in Chinese: A Novel Silent Recessive JK Allele》	18
17 《中国人群 KEL 等位基因 2 例新突变的检出》	19
18 《A novel IGnT allele responsible for the adult i phenotype》	20
19 《不相容性输血的免疫控制策略》	20
20 《血清学与分子生物学技术鉴定产生抗 Dib 抗体的 Di(a+b-)血型 1 例》	22
21 《罕见的 LW 不规则抗体分析及输血策略——附 1 例报道并文献复习》	23
22 《P1PK 血型不合引起胎死宫内的罕见病例研究 1 例》	25
附表：中国各地区的稀有血型系统抗体筛查情况	28

中国稀有血型系统专刊

(编辑：艾丽萍，张悦，陈悦妍)

1 《抗 Dia 引起的新生儿溶血病及家系 Diego 血型基因研究》

作者：张力，于卫建，周世航，王霓

来源：中国临床医生杂志 2019 年第 47 卷第 8 期

摘要：目的：分析抗 Dia 引起新生儿溶血的血清学特征及家系成员 Diego 血型基因的遗传规律。方法：对患儿进行溶血三项试验，对患儿母亲进行抗体鉴定并测定抗体效价；采用聚合酶链反应方法对患儿及其家系成员进行 Diego 血型的基因检测。结果：患儿溶血三项试验结果均为阳性，检出抗 Dia 抗体，患儿母亲检出抗 Dia 抗体，抗体效价为 1：128。家系的 6 个成员，患儿及患儿祖父、祖母、姐姐 Diego 基因型均为杂合子 Dia/Dib，患儿父亲为纯合子 Dia/Dia，患儿母亲为纯合子 Dib/Dib。结论：患儿祖父、祖母均为 Dia 抗原携带者，其父亲为稀有血型 Di(a+b-)，患儿遗传了来自父亲的 Dia，导致患儿母亲产生了抗 Dia 抗体，而发生 Diego 血型不合所致的新生儿溶血。

病例简介：患儿，女，汉族，足月分娩，出生时体重 3.2kg，出生 4h 后因全身黄染入院治疗，经实验室检查：总胆红素 289.4 μmol/L，直接胆红素 16.6 μmol/L，间接胆红素 272.8 μmol/L；血常规：白细胞计数 38.18 ×10⁹/L，中性粒细胞比值 31.4%，淋巴细胞比值 44.6%，单核细胞比值 20.1%，红细胞计数 2.45 ×10¹²/L，血红蛋白 96g/L，红细胞比容 0.297，网织红细胞 1552，血小板 232.00 ×10⁹/L；乳酸脱氢酶 2023U/L。其母，汉族，40 岁，孕 2 产 2。第 1 胎，女，11 岁，健康；第 2 胎即本例患儿。患儿父亲、祖父、祖母均为汉族。

基因检测方法：提取患儿及患儿母亲、父亲、姐姐、祖父、祖母的血液标本 DNA，扩增 SLC4A1 基因的第 19 外显子，PCR 反应结束后，切胶纯化目的片段，使用 ABI3730 型基因分析仪对 SLC4A1 基因第 19 外显子进行测序。第 2561 位碱基表现 T 为 Dia 抗原，表现 C 为 Dib 抗原。

表 1 患儿血清、红细胞放散液及母亲血清与谱细胞在抗人球蛋白介质中反应格局表															
序号	Rh-hr				Kidd				MNSs				Duffy		Diego
	D	C	E	c	JK ^a	JK ^b	M	N	S	s	Mur	Fy ^a	Fy ^b	Di ^a	Di ^b
1	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0
2	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	/	+	0	/	/
3	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	/	0
4	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	/	+	0	/	/
5	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0
6	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0
7	0	0	0	+	+	+	+	+	0	+	/	+	0	/	/
8	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	/	+	0	/	/
9	0	0	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0
10	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	+	+	0	/	/

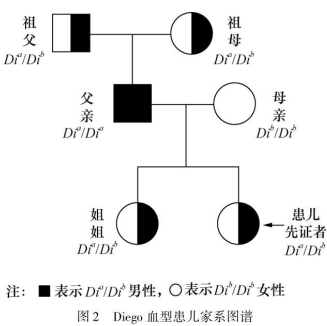


图 2 Diego 血型患儿家系图谱

讨论

在 1995 年，Layrisse 等首次报道了 1 例在委内瑞拉发现的 Diego 血型不合引起的新生儿溶血病例。Diego 血型系统包含 21 个抗原，编码基因为 SLC4A1，位于染色体 17q12-q21，DNA 片段长度为 18kb，包含 20 个外显子，编码细胞膜带 3 蛋白(Band3 蛋白)。其中，具有临床意义的一对抗原为 Dia 和 Dib，在新生儿期就有很强的表达，其抗体抗 Dia、抗 Dib 均由免疫产生，分别属于 IgG1 和 IgG3 类抗体。

Diego 血型的新生儿溶血病是由母婴 Diego 血型不合引起的高胆红素血症，Diego 血型不合时，胎儿红

细胞经胎盘进入母体循环中，被母体脾巨噬细胞所吞噬，需要相当长的时间才能释放出足够量的 Diego 抗原，该抗原抵达脾淋巴细胞的相应抗原受体而产生 IgM 抗体，不能通过胎盘，由于胎儿红细胞进入母体较多发生在妊娠末期，故第 1 胎分娩时仅处于初次免疫反应的潜伏阶段，即使经胎盘出血发生得较早，但因前述原因，一般第 1 胎的新生儿溶血病发病率很低。

Dia 与 Dib 基因的多态性差异主要体现在 C2561T 的变异，Dia 第 2561 位碱基为 T，Dib 为 C，Dia 与 Dib 抗原的差异主要是因为第 854 位氨基酸残基的不同(亮氨酸和脯氨酸)。家系调查证明，Dia、Dib 基因的遗传具有明显的孟德尔显性性状特征。患儿的祖父和祖母两个个体，经分子生物学检测 2561C>T，均为杂合子基因型 Dia/Dib，两个体均携带 Dia 基因，其后代患儿父亲在 2561 碱基位上表现为 T，编码亮氨酸，此子代个体分别遗传了来自父本(患儿祖父)的 Dia 基因和来自母本(患儿祖母)的 Dia 基因，为纯合子基因型 Dia/Dia。患儿母亲为纯合子基因型 Dib/Dib，在第 854 位编码脯氨酸，因此，两人的后代患儿及患儿姐姐均为杂合子基因型 Dia/Dib。

由于抗 Dia 和抗 Dib 单克隆试剂价格昂贵，尤其抗 Dib 血清较为稀有，使得血清学筛查 Diego 血型存在一定的困难。本研究利用分子生物学手段，获得患儿及其家系的 Diego 血型的基因型，为临床上因稀有血型抗体引起的新生儿溶血病的检测提供准确、可靠的试验数据。通过血型抗原的基因检测，能有效检出先证者父亲为 Diego 系统的稀有血型 Di(a+b-)，对先前血清学结果怀疑为抗 Dia 抗体提供了有利的证据支持。

2 《Rh、MNS 等血型系统不规则抗体导致 HDN 的实验室检测分析》

作者：杨茹 李刚 何欣 任明

来源：临床血液学杂志 2019 年 32 卷 2 期

摘要：目的：分析并总结武汉地区临床常见不规则抗体所致新生儿溶血的抗体分布特点。方法：对武汉血液中心 2006-2016 年间所有送检新生儿溶血病的标本中，由不规则抗体导致的新生儿溶血病溶血筛查试验结果进行回顾性分析。结果：344 例由不规则抗体导致的新生儿溶血病致病抗体主要来自于 Rh 和 MNS 两个血型系统，且 Rh 系统以抗 D、抗 E 比较常见。其他抗体主要还包括抗 M、抗 Mur、抗 Jka、抗 Jkb、抗 Jk3、抗 Fya、抗 Dia、抗 Lea 等。Rh 血型系统抗体 325 例（94.48%），其中 209 例为 Rh 阴性血孕妇抗 D 抗体、MNS 血型系统 13 例（3.78%）、Kidd 血型系统 3 例（0.87%）、Duffy 血型系统 1 例（0.29%）、Diego 血型系统 1 例（0.29%）、Lewis 血型系统 1 例（0.29%）。结论：武汉地区 2006-2016 年由不规则抗体导致的新生儿溶血的不规则抗体按照发生频率依次为 Rh 血型系统、MNS 血型系统、Kidd 血型系统、Duffy 血型系统、Diego 血型系统、Lewis 血型系统，其中数量最多的是 Rh 阴性血孕妇产生的抗 D 抗体，且有多次妊娠或输血史产妇占近一半，鉴于有免疫史的孕妇其新生儿溶血呈高发态势，应对 Rh 阴性血孕妇应进行产前预防和 D 阴性孕妇的相容性输注，以避免再次妊娠产生抗体。并对有过多次妊娠或输血史的产妇，加强产前血型单特异性抗体鉴定筛查及表型筛查，尽量使用血型抗原相匹配的供者血液。

讨论

抗 M 导致的 HDN 在临床上并不少见。MN 血型共有 3 种表现型：MM、NN、MN，抗 M 抗体大多数属于 IgM 型的天然抗体，它与 M+N-细胞反应要强于 M+N+的细胞，具有剂量效应。笔者发现了 3 例 IgG 型抗 M。虽然 IgG 型的抗 M 具有溶血活性，但溶血 3 项试验却出现了直抗为 (-)，放散为 (-)，仅游离试验为

(+) 的情况。分析其原因可能为患儿体内的抗 M 抗体被大量消耗了。**抗 M 溶血病患者输血的原则一般认为是选择与患儿 ABO、Rh 同型的 NN 型红细胞。病情严重达到换血指征者则选择与患儿 ABO、Rh 同型的 NN 型全血或 ABO、Rh 同型的 NN 型红细胞加 ABO、Rh 同型血浆进行换血。**

Kidd 血型系统有 3 个抗原：即 Jka (a+b-)，Jkb (a-b+) 和 Jk3 (a-b-)。Kidd 抗体通常为 IgG 型或 IgG 型与 IgM 型混合物，且有剂量效应，因此盐水法几乎检测不出。Jk3 抗体导致 HDN 十分罕见，目前由 Jk3 抗体引起 HDN 报道国内仅 1 例，Kidd 系统抗体所致 HDN 中，混有 ABO 系统。本例孕妇血液为 O 型，Rh (+)，孕 3 产 1。孕妇抗体筛查为阳性，直抗 2+，IgG 为 2+ 阳性，C3 为阴性，游离试验 2+，放散试验 2+。其直抗 2+，分析其原因可能是合并有 ABO 溶血病而导致直抗反应性不强。我们根据有 Jka 或 Jkb 抗原的红细胞会在 2mol/L 尿素中 1min 内便会迅速溶解，而 Jk (a-b-) 红细胞至少需要 30min 溶解的特点对其进行检测证实。

Duffy 系统有 6 个抗原：Fya、Fyb、Fy3、Fy4、Fy5、Fy6。抗 Fya 是 IgG，大多数是 IgG1。抗 Fya 可引起急性或迟缓性 HTR。抗 Fya-HDN 一般较轻，偶发严重案例。中国人大多数 Fya 抗原阳性，抗 Fya-HDN 较罕见。

Diego 系统包含 21 个抗原，其中两对是对偶抗原，Wra 和 Wrb，Dia 和 Dib，外加 17 个低频抗原。欧洲人群 Dia 抗原频率低，中国汉族人群中 Di (a+) 抗原频率为 0.0519。进口谱细胞中常不含 Di (a+)，容易造成抗 Dia 漏检，而 IgG 类抗 Dia 容易造成严重的 HDN，应加强重视此类低频抗原检测。

Lewis 系统抗 Lea 主要为 IgM 类天然抗体。Lewis 系统抗原只存在于胎儿分泌液中，一般不存在红细胞上，所以 Lewis 抗体不引起严重 HDN，临床偶见 Lewis 抗体在 37℃ 有活性，且是 IgG，能够引起中等程度 HDN。

3 《Hemolytic disease of the fetus and newborn due to alloanti-M: three Chinese case reports and a review of the literature》

《同种异体抗 M 引起的胎儿新生儿溶血病：3 例中国病例报告及文献综述》

作者：Li S, Mo C, Huang L, et al.

来源：Transfusion. 2019;59(1):385-395.

摘要：背景：同种异体抗 M 曾被认为没有临床意义，只有极少数病例例外。然而，有越来越多同种异体抗 M 引起的严重胎儿新生儿溶血病(HDFN)导致胎儿水肿和复发性流产的报道，主要在亚洲人群。研究设计和方法：遇到 3 例有异常妊娠和胎儿水肿史的中国孕妇。在其妊娠期间，我们进行了一系列的临床检查和针对红细胞和血小板的同种抗体鉴定。然后对胎儿进行宫内输血和产后输血。此外，还对不同民族报告的同种异体抗 M 引起的 HDFN 病例及其临床和血清学特征进行了总结（1959 年始，21 篇英文文献+40 篇中文文献，共 64 例孕妇，67 例抗 M-HDFN 胎儿/新生儿）。结果：3 例孕妇 M-N+ 表型，血清中发现 IgM 与 IgG 同种异体抗 M 混合。她们的胎儿经超声检查和脐带血检测发现有严重贫血。3 例胎儿 M+N+ 表型，脐血中检测到 IgG 同种异体抗 M，滴度为 1:1 ~ 1:128。其中 2 例胎儿网织红细胞计数低、直接抗球蛋白测试阴性。在接受多次宫内和产后输血后，这 3 例胎儿最终存活下来，并在随访中健康成长。结论：同种异体抗 M 免疫可导致重度 HDFN 伴低再生贫血，这在亚洲人群中常见，可能与红细胞生成抑制有关。

输血策略：3 例均输 M 阴性红细胞。

TABLE 1. Blood phenotype and serologic test in three Chinese MN isoimmunization cases									
Case		ABO	Rh	MN	DAT		IAT	Eluted-IAT	Titer of IgG anti-M
					IgG	C3			
1	Mother	O	CCDee	NN	...	...	+	...	4
	Father	AB	CcDEe	MM	...	...	...	...	...
	Fetus	B	D+	MN	—	—	+	+	1*
2	Mother	A	CcDEe	NN	...	...	+	...	256
	Father	B	D+	MN	...	...	...	...	...
	Fetus	B	D+	MN	—	—	+	...	128
3	Mother	A	D+	NN	...	...	+	...	8
	Father	A	D+	MM	...	...	...	...	...
	Fetus	O	D+	MN	...	...	+	...	8

* The titer of anti-B in elution was 2.

TABLE 2. The clinical findings of three pregnant Chinese women and affected fetuses due to alloanti-M													
Case	IUT		Hydrops	Fetus					Infants				
	First GA	Times		Hb _{min} (g/L)	Hct	Ret (10 ⁹ /L)	Ret %	RPI %	GA	Sex	Tx	Major Complications	Outcomes
1	20+6	8	No	23	0.077	138.1	16.8	1.1	35	M	5	ABO incompatibility	Alive
2	31+1	2	No	86	0.231	84.2	4.1	1.1	35	M	2	NEC, icterus	Alive
3	27	5	Yes	23	0.090	...	...	...	36	F	3	...	Alive

First GA = the first gestational age of intrauterine transfusion; GA = gestation age at birth; Hb_{min} = the lowest hemoglobin before intrauterine transfusion; NEC = necrotizing enterocolitis; Ret = reticulocyte count before intrauterine transfusion; Ret% = reticulocyte percentage before intrauterine transfusion; RPI = reticulocyte production index, calculated according to standard procedures²²; Tx = times of transfusion after birth.

4 《不规则抗体致新生儿溶血病的实验检测结果分析》

作者：刘鹏飞

来源：国际医药卫生导报2018年第24卷第17期

摘要：目的：探讨不规则抗体致 HDN 的实验室检测结果，总结临床输血策略。方法：选取本院（开封市儿童医院）2016 年 10 月至 2017 年 10 月收治的 3560 例 HDN 患者作为研究对象，采集患儿的静脉血标本，进行不规则抗体筛选及特异性鉴定，回顾性分析检测结果。结果：3560 例 HDN 患儿中有 20 例的不规则抗体为阳性，检出率为 0.56%。抗体特异性鉴定结果显示：Rh 血型系统 16 例(80.00%)、MNS 系统 2 例(10.00%)、Kidd 系统 1 例(5.00%)、Duffy 系统 1 例(5.00%)。Rh 血型系统中，抗 D 最多，其次为抗 E、抗 cE，另外还有抗 Ce、抗 c、抗 M、抗 Fyb、抗 JKa。20 例 HDN 患儿母亲中有 18 例有妊娠史，占 90.00%，8 例有输血史，占 40.00%。所有患儿均采用光疗法，并静脉注射丙种球蛋白进行治疗，其中 12 例患儿接受了换血治疗，所有患儿经治疗后全部好转出院。结论：不规则抗体引起的新生儿溶血病多为 Rh 血型系统，临床应结合抗体检测、直抗试验、放散试验、游离试验结果综合判定，以降低漏检风险。

5 《抗 Dib 血型不合引起单卵双胞胎新生儿溶血病 1 例》

作者：赵翠，张澜，胡黎园，曹云，程国强

来源：中华实用儿科临床杂志2017年3月第32卷第6期

临床资料

患儿母亲 37 岁，血型：A 型，Rh 阳性，既往无输血史，曾孕 4 次，引产 2 次，流产 1 次，有一女儿，女儿出生后无重度贫血或黄疸史，本次为自然受孕，双胞胎男童。

患儿甲，双胞胎之大，男，第 5 胎，第 3 产，孕 37+4 周，出生体质量 2700g，出生时羊水清，出生无窒息抢救史，Apgar 评分 10 分。出生第 2 天出现皮肤黄染，逐渐加重，无发热，无呻吟、发绀，无抽搐，奶粉喂养，胎粪排出良好。血清总胆红素 346.4 $\mu\text{mol/L}$ ，以非结合胆红素为主；出生第 3 天血清总胆红素 430.4 $\mu\text{mol/L}$ ，血红蛋白 144g/L，血涂片红细胞形态正常。患儿乙，男，与患儿甲为同卵双胞胎关系，双胞胎之小，出生体质量 2200g，出生情况可。与其兄类似，出生第 2 天开始出现皮肤黄染并逐渐加重，血清总胆红素 274.5 $\mu\text{mol/L}$ ；出生第 3 天血清总胆红素增加至 356.7 $\mu\text{mol/L}$ ，血红蛋白 207.1g/L，血涂片红细胞形态正常。2 例患儿血型均为 O 型，Rh 阳性，直接抗人球蛋白试验(DAT)均强阳性，间接抗人球蛋白试验(IAT)均阳性，出生第 2 天立即予光疗，但血清总胆红素值并未下降，反而分别升至 430.4 $\mu\text{mol/L}$ 、356.7 $\mu\text{mol/L}$ ，高度怀疑由某种特异抗体所致 HDN，故分别应用静脉注射用免疫球蛋白(IVIG)2.5g、2.1g 封闭抗体。同时将 2 例患儿及母亲血液标本送检上海市血液中心，母亲血型为 Di(a+b-)，三者血清均检出抗 Dib，放散液检出抗 Dib，证实 2 例患儿由抗 Dib 引起 HDN。2 例患儿经光疗及 IVIG 约 1g/kg 应用后血清总胆红素下降，出生第 4 天分别降至 211.8 $\mu\text{mol/L}$ 、269.2 $\mu\text{mol/L}$ ，出生第 5 天为 122.9 $\mu\text{mol/L}$ 、193.2 $\mu\text{mol/L}$ ，未采用换血疗法。患儿一般情况稳定后，查头颅 MRI 均未见明显异常，患儿乙听力筛查未通过，经皮胆红素分别降至 122.9 $\mu\text{mol/L}$ 、102.6 $\mu\text{mol/L}$ ，血红蛋白稳定在 146g/L、159g/L，分别于出生第 10 天、第 15 天出院。出院后未再随访问接抗人球蛋白试验；20 月龄时生长发育与健康同龄儿相仿，无明显落后，患儿乙听力正常。

讨论

本研究报道 1 例 2013 年 10 月复旦大学附属儿科医院新生儿科收治的抗 Dib 引起单卵双胞胎重度 HDN，并进行文献回顾，分析抗 Dib 所致 HDN 的治疗及抗体滴度与疾病严重程度的关系。

已报道抗 Dib 所致 HDN 案例 32 例(包括本案例)，其中 16 例来自日本，中国 5 例。轻者 10 例不需要任何治疗。中者 6 例仅需要蓝光照射治疗。重者 10 例在光疗基础上进行了换血治疗[8 例应用 Di(b+) 红细胞；2 例先应用 Di(b+) 红细胞，后应用 Di(b-) 红细胞]；5 例光疗基础上应用高剂量 IVIG；仅 1 例在光疗基础上既进行换血治疗[Di(b-) 红细胞]又应用了高剂量 IVIG。对比 3 组母亲血清抗体滴度，轻组与重组之间差异有统计学意义($P=0.0010$ ， $P<0.05$)，轻组与中组比较差异无统计学意义($P=0.4374$ ， $P>0.05$)，中组与重组比较差异无统计学意义($P=0.1392$ ， $P>0.05$)。当选择抗体滴度 1:64 作为界值时，22 例案例中 14 例为重症病例，约占 64%。

Dib 血型不合 HDN 是由于 Di(b-) 母亲既往有血型不合的输血或妊娠史，从而产生抗 Dib，该抗体可通过胎盘(该抗体为 IgG 类抗体)引起 Di(b+) 患儿溶血。抗 Dib 所致 HDN 临床表现轻重不一，可以没有任何表现，亦可以引起需换血或高剂量 IVIG 治疗的重度黄疸，而临床表现程度与抗体滴度有关。本研究对 32 例抗 Dib 所致 HDN 分析，需换血或高剂量 IVIG 治疗组与无需治疗组相比，母亲血清抗体滴度明显高($P<0.05$)，取界值 1:64 预判重症 HDN 时，22 例抗体滴度 $\geq$ 1:64 的案例中，14 例需换血治疗或高剂量 IVIG，这与 Mochizuki 等研究相似。

对于抗 Dib 所致重症 HDN，换血治疗最好应用 Di(b-) 红细胞，但基于 Di(b-) 为稀有血型的事实，以往案例中也有应用 Di(b+) 红细胞进行换血治疗的做法，虽然可以清除来自母体的抗体和溶血产生的胆

红素，但治疗效果一般，而且有继续溶血引起贫血加重及胆红素升高可能，仍需要 Di (b-) 红细胞再次换血治疗。本研究回顾的 11 例换血治疗的案例中，2 例 Di (b+) 红细胞换血治疗后又进行了 Di (b-) 红细胞换血治疗。为及时获得 Di (b-) 红细胞，Donato 等在患儿母亲孕期应用促红细胞生成素促进红细胞产生，从而采集 900mL 相应血液，在患儿出生后发生 HDN 的最早期给予换血治疗，母亲无不良反应，患儿预后良好。这种做法必须基于对孕母血型的充分了解，但临床上往往在发生 HDN 后对 ABO 及 Rh 血型溶血排除后才会考虑稀有血型溶血可能。在发生抗 D_{ib} 所致 HDN 时，Di (b-) 红细胞难以及时获得，可以应用高剂量 IVIG 封闭抗体，防止溶血进一步加重，同时为获得 Di (b-) 红细胞争取更多时间。本研究中双胞胎患儿血清抗体滴度高，血清总胆红素值高，属于重度 HDN，应用 IVIG 1g/kg 治疗，配合光疗，取得了较好的临床效果。

6 《罕见抗 JK3 引起新生儿溶血病及家系 Kidd 血型基因研究》

作者：许志远，林裕翔，刘亚庆，刘素芳，刘凯，王颖

来源：北京医学2017年第39卷第8期

摘要：目的：研究 Kidd 系统稀有血型 Jk (a-b-) 产生抗 JK3 引起的新生儿溶血病，Jk (a-b-) 表型的分子机理及其家系 Kidd 血型的基因遗传。方法：对患儿血样做新生儿溶血病三项检测：直接抗人球蛋白试验、血清游离抗体和红细胞放散试验；患儿母血样做抗体鉴定及 Kidd 血型鉴定；患儿父血样做 Kidd 血型鉴定；采用 PCR-SSP 方法对患儿及其父母做 Kidd 血型的基因检测，并对 JK 基因 4-11 外显子及其侧翼区域扩增后测序，分析其序列信息。结果：患儿为 B 型 RhD 阳性、Kidd 表型为 Jk (a-b+)、基因型为 JKB/JKB (IVS5-1 G>A)；患儿母为 O 型 RhD 阳性，Kidd 表型为 Jk (a-b-)、基因型为 JKB (IVS5-1 G>A) /JKB (IVS5-1 G>A)；患儿父为 B 型 RhD 阳性，Kidd 表型为 Jk (a-b+)、基因型为 JKB/JKB；患儿母血浆中存在抗 Jk3，患儿为抗 Jk3 引起的新生儿溶血病。结论：患儿母在 Jkb 等位基因第 5 内含子 3'端保守区剪切结合位点处发生了 G 到 A 的突变 (IVS5-1 G>A)，导致 mRNA 转录本中从第 6 外显子开始缺失，致其 Kidd 表型为 Jk (a-b-)，其因妊娠免疫产生了抗 JK3 并导致患儿发生新生儿溶血病。

病例简介：患儿女，出生 1d 后发生黄疸并持续加重，患儿及其父母 EDTA 抗凝血样送至本实验室进行新生儿溶血病检测。患儿母，36 岁，孕 2 产 2，无输血史。

基因检测方法

(1) JKA/JKB 基因多态性分析：人类红细胞 MNS，Duffy，Kell，Dombrock，Diego，Kidd，Scianna，Colton，Lutheran 血型基因分型试剂盒（由天津秀鹏生物技术开发有限公司提供），采用 PCR-SSP 技术。

(2) Kidd 基因扩增与测序分析：Kidd 测序科研试剂盒（由江阴力博医药生物技术股份有限公司提供）。

结果

表1 患儿及患儿母血浆、吸收后血浆及红细胞放散液抗体鉴定结果

编号	Kidd表型	患儿/患儿母	Jk三种表型细胞吸收患儿/患儿母血浆后(卡)			Jk三种表型细胞吸收患儿/患儿母血浆后放散液(试管)		
			Jk(a-b+)	Jk(a+b-)	Jk(a+b+)	Jk(a-b+)	Jk(a+b-)	Jk(a+b+)
1	Jk(a-b+)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
2	Jk(a+b-)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
3	Jk(a+b-)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
4	Jk(a+b+)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
5	Jk(a-b+)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
6	Jk(a-b+)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
7	Jk(a+b-)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
8	Jk(a+b-)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
9	Jk(a+b-)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
10	Jk(a-b+)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+
11	Jk(a+b+)	1+/3+	0/0	0/0	0/0	w+/1+	w+/1+	w+/1+

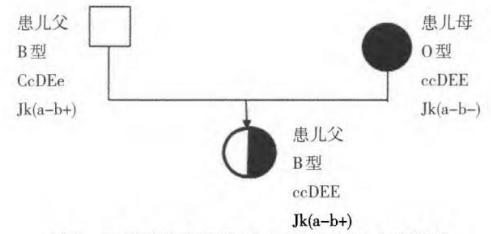


图1 患儿及其父母的ABO、Rh和Kidd血型结果

图1 纠错：最下方应是“患儿”，而不是“患儿父”。

讨论

Kidd 血型系统（JK，ISBT009）的抗体是除 ABO、Rh 系统外引起溶血性输血反应的主要血型抗体，Kidd 血型系统的四种表型中，Jk（a-b-）是十分罕见的稀有表型，其因免疫产生的抗 Jk3 可引起急性和迟发性溶血性输血反应，近年，国内外屡有此抗体引起溶血性输血反应的报道，但在国内外未见其引起新生儿溶血病的报道。本例尚属国内外报告的首例。

本例患儿直抗结果为 4+，通过对患儿和患儿母亲血浆进行抗体筛选、抗体鉴定和患儿红细胞放散等试验，我们证实引起新生儿溶血病的抗体肯定包含抗 Jk3，因为利用抗人球蛋白方法对患儿、患儿母亲用三种不同 Jk 表型细胞吸收后的血浆结果均为阴性，证明患儿体内无 IgG 性质的抗 B，因此排除了可能同时存在 ABO 系统新生儿溶血病的可能。患儿母 Kidd 血型为 Jk（a-b-），经第一次妊娠后，患儿母被免疫产生高频抗原抗体抗 Jk3，本次妊娠，抗体经胎盘进入胎儿体内，由于患儿 Kidd 血型为 Jk（a-b+），因此造成患儿发生新生儿溶血病。患儿血浆及患儿母血浆经 O 型 Jk（a-b+）、Jk（a+b-）、Jk（a+b+）吸收后，其剩余血清与谱细胞均呈阴性反应，表明患儿母血浆及患儿血浆中抗体可以被上述 3 种细胞完全吸收，同时患儿血浆中不存在其他意外抗体，对于吸收后的红细胞进行氯仿放散后，进行的抗体鉴定结果表明，患儿母亲及患儿体内均存在抗 Jk3，由此推断患儿产生新生儿溶血病的原因是抗 Jk3 引起的新生儿溶血病。

JK（SLC14A1）基因有 30kb，11 个外显子。1-3 和部分 4 号外显子位于 3'端非翻译区，4-11 号外显子编码成熟蛋白（即红细胞膜上的尿素转运蛋白。Jka 和 Jkb 可以主动转运尿素通过红细胞膜，而 Jk（a-b-）表型个体对于尿素的转运只能通过扩散的方式，其转运速度相比主动转运慢很多，因此可以通过尿素溶解试验来进行 Jk（a-b-）表型的筛选）。JKA/JKB 基因多态性差异主要体现在 G838A 上，JKA 第 838 位碱基为 G，JKB 为 A。Jka 与 Jkb 抗原的差异主要是因为第 280 位氨基酸残基的不同（天冬氨酸和天冬酰胺）。对 Jk（a-b-）表型的分子机制研究在国内外报道中，主要包括以下几点：①在 JKB 等位基因内含子 5 的 3'端保守区剪切结合位点发生 G 到 A 的突变，导致 mRNA 转录中从第 6 外显子处缺失。②在 JKB 等位基因 T871C 处发生改变，从而阻断位于第 8 个跨膜功能区 289 位的 Asn 糖基化。③JKB 等位基因第 7 内含子的剪切位点上发生 G 到 T 的转换，导致转录时第 7 外显子后的序列全部消失。④JKB 等位基因外显子 4 到 5 区域缺失 1.6kb 的基因片段或缺乏翻译启动密码。⑤在 JKA 等位基因外显子 7 处出现终止密码子，从而缺少大量氨基酸片段。

在本次家系调查中，患儿及其父母在 838 位上均为 A，基因型均为 JKB/JKB。通过对三人的 JK 基因 4-11 外显子及其侧翼区域的测序，发现患儿母在第 5 内含子 3'端保守区剪切结合位点处发生了 G 到 A 的突变即

IVS5-1G>A, 导致 mRNA 转录本中从第 6 外显子处开始缺失, 致其虽然有 JKB 基因但不表达 Jkb 抗原, 其 Kidd 表型为 Jk (a-b-)。患儿父表型为正常 Jk (a-b+)。根据孟德尔遗传规律, 患儿分别从母亲和父亲处遗传了一条无功能的 JKB 基因和一条有功能的 JKB 基因, 从而表型为 Jk (a-b+)。

7 《不规则抗体致新生儿溶血病换血治疗的研究分析》

作者: 洪毅

来源: 现代检验医学杂志第31卷第6期2016年11月

摘要: 目的: 对由 ABO 以外不规则抗体引起新生儿溶血病 (HDN) 的换血治疗进行分析研究, 并探讨其临床诊疗意义。方法: 收集 2010~2015 年在西安高新医院进行新生儿溶血病实验样本 2311 例, 用微柱凝胶卡抗球蛋白法筛查不规则抗体, 低离子液介质间接抗球蛋白试验 (Liss-IAT) 试管法鉴定不规则抗体; 分析不规则抗体的种类和相关临床资料; 换血后的疗效观察。结果: 在 2311 例新生儿溶血病样本中共检出不规则抗体 36 例, 检出率占 1.56%。其中 Rh 血型系统、Lewis 血型系统、Kidd 血型系统、Diego 血型系统分别检出 28 例、3 例、4 例和 1 例, 阳性率分别为: 77.78%, 8.33%, 11.11% 和 2.78%; 在 Rh 血型系统的不规则抗体 28 例中, 抗 D、抗 E、抗 cE、抗 C 和抗 Ce 分别检出 2 例, 8 例, 11 例, 2 例和 5 例, 各抗体所占的百分率分别为: 7.14%, 28.57%, 39.29%, 7.14% 和 17.86%; 换血前后血红蛋白、游离胆红素用 t 检验, 换血前后血红蛋白明显升高, 游离胆红素明显降低, 差异具有统计学意义, 其中有 26 例进行了换血治疗。结论: 不规则抗体易致严重的新生儿溶血病, 在检测中应采用敏感的方法, 对临床进行换血治疗有重要的指导作用。

8 《临床输血不良反应和免疫产生意外抗体的分析》

作者: 袁志军, 张婧婧, 杨志美, 李月, 庞桂芝, 王鹏, 张群妹, 张晨光

来源: 现代预防医学2015年第42卷第12期

摘要: 目的: 回顾分析临床输血不良反应情况, 探讨有效降低输血不良反应的措施。方法: 收集 3 家医院 68742 例临床发生输血不良反应资料, 统计分析临床输注不同血液制品后发生不良反应和免疫溶血反应产生抗体的情况。结果: 68742 例临床输血患者中 247 例发生了输血不良反应, 其中溶血性输血不良反应发生率为 0.08%, 非溶血性输血不良反应发生率为 0.28%。193 例非溶血性输血反应患者主要表现为过敏及发热反应, 占 86.01%; 54 例溶血性输血反应患者中, 45 例既往有输血史/妊娠史, 产生的抗体多为 IgG 类 Rh 血型抗体和抗 HLA; 另外 9 例未曾发生过免疫刺激的患者, 体内自发产生有 IgM 类的抗 M、抗 Lea、抗 I、不规则抗 A1 等冷抗体或自身抗体。结论: 临床非溶血性输血反应以过敏及发热反应为主, 溶血性输血反应多因患者既往免疫产生了 IgG 类抗体, 引发急性溶血反应。临床明确输血反应种类后, 选用合理血液成分输注和采取有效的预防措施以降低输血不良反应的发生。

对象: 2011 年 1 月-2013 年 5 月河南省濮阳市油田总医院和新乡医学院第一、第三附属医院收治的输血患者 68742 例, 其中既往有输血史/妊娠史患者 49381 例。

讨论: 54 例免疫溶血性输血反应患者中, 45 例既往有输血史/妊娠史, 产生出免疫性 IgG 抗体, 主要表现在

Rh 血型系统抗体和抗 HLA。因此，对既往有免疫史的患者，输血前不规则抗体筛选和鉴定尤显重要，**抗体筛选阳性的患者，选择相应抗原阴性、交叉配血相合的血液成分输注是保障输血安全的有效措施。**本次调查共检测出 9 例自身抗体和 2 例同种抗体抗 E 伴自身抗体，主要来自于自身免疫性疾病患者，大多有输血史/妊娠史，体内含有 IgG 自身抗体。因此，在试验过程中应防止 IgG 自身抗体覆盖同种抗体，应先用自身红细胞去除自身抗体，然后再检测同种抗体，防止同种抗体漏检造成溶血性输血反应，最大限度地规避输血风险，减少输血不良反应。

9 《凝聚胺漏检抗 Lea 致溶血性输血反应 1 例》

作者：毛娟，吴大洲，王满妮，左琴琴，徐华
来源：中国输血杂志2013年2月第26卷第2期

病例简介：患者，女，59 岁，汉族，以“脑出血”收治入院，妊娠史 G5P3 及有多次输血史。本次入院第一次输注红细胞悬液 3U，未见异常，10d 后再次输注红细胞悬液，当输注约 150mL 时患者出现呼吸困难、畏寒、腰痛、血压低、心率加快和酱油色尿等症状，立即停止输注，进行积极抢救。实验室检查此患者血清直接胆红素值为 57 μ mol/L，游离血红蛋白值为 2000mg/L。2 次配血主、次侧在盐水、凝聚胺介质中均未见凝集，为明确原因送本实验室鉴定。样本取患者第 2 次输血前留存血样及发生输血反应的供血者血样。

结果

- （1）血型鉴定结果：患者血型为 O 型，RhD+，Le（a-b+）；供血者血型为 O 型，RhD+，Le（a+b-）。
- （2）交叉配血结果：抗球蛋白法配血不相合，盐水法和凝聚胺法配血相合，应为 IgG，凝聚胺法漏检。

表 1 患者与供血者交叉配血结果

	主侧	次侧	自身对照
盐水法	0	0	0
凝聚胺法	0	0	0
抗球蛋白法	2 +	0	0

- （3）血清不规则抗体鉴定：患者血清与谱细胞（格局为 1~10 号细胞）反应见表 2，盐水法、凝聚胺法，患者血清和谱细胞不出现凝集反应，抗球蛋白法患者血清和谱细胞抗原阳性细胞出现凝集反应，凝集强度 2+w，同时患者血清与自身细胞在 3 种方法中均未见凝集，根据反应结果，判定血清中存在 IgG 型抗 Lea。

表 2 患者血清与谱细胞反应检测结果

序号	Rh-4r					Kidd		MNSs					Duffy		Diego		Kell		Lewis		P	DO		Yt		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	Pl	DO ^a	DO ^b	Yt ^a	Yt ^b	抗球 蛋白法	盐水、 凝聚胺法	
1	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0
2	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0
3	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	/	0	/	+	/	/	/	/	/	/	/	1+	0
4	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	/	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0
5	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	0	0
6	+	0	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	2+	0	0
8	+	+	+	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	2+ ^w	0	0
10	+	0	+	+	0	+	+	+	/	0	+	/	+	+	/	/	0	/	+	/	0	/	/	/	/	2+ ^w	0	0

讨论: Lewis 抗原为水溶性抗原,除了存在于血清中,还存在于唾液、乳汁、胃液、尿液中。与其他血型抗原不同,Lewis 抗原是从血浆中吸附到红细胞上,并可从红细胞上放散下来。Lewis 血型抗体以 IgM 型抗体为主,由于受血者的 Lewis 抗体可被供血者血浆中存在的 Lewis 抗原中和,且大多 Lewis 抗体在 37℃ 无活性,所以 Lewis 抗体所致溶血性输血反应在临床上少见。本例患者在输注了盐水、凝聚胺法交叉配血相合的血液后发生严重溶血性输血反应,后经本实验室证实由于患者血清中存在 IgG 类型的 Lea 抗体导致。国内已有多例 Lewis 抗体引起溶血性输血反应的报道。当前,由于医疗技术的发展,出现越来越多的多次输血的患者,使得许多以前少见的不规则抗体出现逐渐增多的趋势,因此需要在日常临床输血工作中对不规则血型抗体的检测予以足够重视,采取更灵敏的实验技术,防止因漏检而导致溶血性输血反应的发生。

10 《孕妇产前红细胞血型不规则抗体筛查及鉴定分析》

作者:韩斌,朱于莉,冯智慧

来源:国际输血及血液学杂志2020年1月第43卷第1期

摘要: 目的:探讨孕妇红细胞血型不规则抗体的分布及特点。方法:选择 2016 年 1 月至 2018 年 6 月,于青岛市中心血站进行红细胞血型不规则抗体鉴定的 130 例孕妇为研究对象。初次妊娠孕妇为 25 例,既往有孕、产史或流产史者为 105 例;既往有输血史者为 3 例。研究对象纳入标准:产前检查时,红细胞血型不规则抗体初筛结果呈阳性者。对这 130 例孕妇的红细胞血型不规则抗体筛查与鉴定采用微柱凝胶法或者试管法。结果:130 例孕妇的血清标本中,Rh、MNSs、P、Lewis 血型系统不规则抗体为 71 例(54.6%)、28 例(21.5%)、3 例(2.3%)和 14 例(10.8%),抗 HI 为 4 例(3.1%)。结论:青岛市红细胞血型不规则抗体阳性孕妇的不规则抗体分布,以 Rh 血型系统为主,其次是 MNSs 血型系统。对孕妇进行产前红细胞血型不规则抗体筛查和鉴定,有利于保证孕妇输血安全,以及降低 HDN 的发生风险。

讨论

不同血型抗原对应的不规则抗体的产生频率,主要取决于其抗原的免疫原性及表达量。本研究 130 例红细胞血型不规则抗体初筛结果呈阳性的孕妇中,检出 MNSs 血型系统不规则抗体 28 例,其中 27 例为抗 M,其中大部分属于天然抗体。此外,检出 Lewis 血型系统不规则抗体 14 例,以 IgM 抗体为主,部分合并 IgG 抗体。通常 Lewis 血型系统不规则抗体不会引起严重的 HDN。本研究结果提示,孕妇检出的红细胞血型不规则抗体涉及多个血型系统,因此应提高实验室血型系统不规则抗体的检出能力,避免漏检。

针对红细胞血型不规则抗体筛查阳性的孕妇,首先应通过不规则抗体鉴定试验确定不规则抗体的特异性,其次需要确认被检者相应抗原是否为阴性。检测孕妇红细胞血型不规则抗体效价是预测其新生儿 HDN 严重程度的最常用方法,当检出 IgG 抗体时,应进行抗体效价的测定并定期复查,建议妊娠 28 周之前,每 4 周检测 1 次,妊娠 28 周至分娩,每 2 周检测 1 次,进行不规则抗体鉴定及抗体效价分析。分娩后,留取新生儿血液标本或脐带血进行 HDN 相关检测。

11 《7381 例孕妇产前不规则抗体检测特异性分析及临床意义》

作者:孙文瑾,王淑平,汤伟娴,陈慧芬.

来源：诊断学理论与实践2019年第18卷第3期

摘要：目的：对在我院（同济大学附属第一妇婴保健院）产检的孕妇进行血型不规则抗体筛查和抗体特异性检测，了解孕妇不规则抗体的检出情况及相关临床特征。方法：采用微柱凝胶卡，对2017年1月至2018年8月来我院产检的孕妇进行血型不规则抗体筛查，并对筛查阳性的标本进行抗体特异性鉴定分析。结果：7381名孕妇中，32例检出不规则抗体，阳性率为0.434%，其中抗M 10例、抗E 3例、抗Ec 8例、抗D 4例、抗Lea 4例、抗Dia 1例、抗Wra 1例、冷抗体1例。以上检出不规则抗体的孕妇均具有1次以上的妊娠史。结论：本院孕妇的血型不规则抗体检出率为0.434%，其中抗M最多见。

讨论：32例红细胞血型不规则抗体阳性的孕妇，妊娠次数均超过1次，多为2~4次，其均无输血史，提示孕妇的红细胞血型不规则抗体主要是经妊娠免疫刺激所产生。本研究检出抗M抗体10例，占31.25%（10/32）。抗M抗体较常见，且通常以IgM的形式存在，大部分属于天然抗体，不能通过胎盘。然而，近年来发现越来越多的病例由抗M抗体引起新生儿溶血病。可见，绝大部分抗M含有IgM成分，不过其中的78%又同时含有部分IgG，且这些IgG也可以在盐水中凝集M抗原阳性红细胞。本研究只采用了微柱凝胶卡方法，对孕妇进行抗体筛查及抗体特异性鉴定，并未对37℃无法完全散开的IgM性质抗M抗体引起的凝集进行区分，而此类抗体并不会通过胎盘导致新生儿溶血病。如果确定是IgG性质抗M抗体后，还可以通过检测胎儿及父亲的MN血型抗原，从而来预测新生儿溶血病发病可能性。虽然不管是IgM或IgG性质的抗M抗体都会造成孕妇紧急输血困难，本研究检出的10例抗M抗体，由于未区分其抗体性质，以及未对胎儿和其父亲的MN抗原进行检测，因而对新生儿溶血病预测发生率可能存在偏差。

12 《Unexpected red blood cell antibody distributions in Chinese people by a systematic literature review》

《系统文献综述中国人红细胞不规则抗体分布》

作者：Chen C, Tan J, Wang L, et al.

来源：Transfusion. 2016;56(4):975 - 979.

摘要：背景：不规则抗体常与胎儿和新生儿溶血性疾病（HDFN）和溶血性输血反应（HTR）有关，筛选这些不规则抗体对输血的安全性和有效性至关重要。不同的人群在有意义抗体和低频红细胞抗原的分布上存在差异。10多年来，抗体筛查一直是中国输血前检测的普遍做法。然而，国家没有关于筛选细胞的最低抗原的指导方针，因此使抗体筛选试验不能令人满意。研究设计和方法：通过文献综述，我们系统检索了从建立到2014年的主要数据库中关于中国人红细胞不规则抗体、HTRs和HDFNs的文献，探讨红细胞不规则抗体的发生频率和临床意义。结果：总共纳入1228篇文献，包括6102361名受试者。其中，14095名受试者检出14881例不规则抗体。不规则抗体的总频率约为0.2%（14095/6102361）。在所有报告的抗体中，Rh血型抗体最多，其次是MNS、Lewis、Kidd、Duffy、Diego和Kell系统（表2和表3）。46例抗H和58例抗I也被报道。几个罕见但有临床意义的抗体被报道：4例抗Le^x，3例抗Lu^a，1例抗Tj^a和1例抗Hm。565篇文献中，共有2241例患者发生HTR（693例）或HDFN（1548例），检出不规则抗体2381例。其中，Rh系统抗体最常见（2173/2381, 91.3%），其次是MNS系统抗体（118/2381, 5.0%）。除了13例是急性HTR，

几乎所有 HTR 都发生在输血 24 小时后。13 例急性 HTR 中，3 例由抗 Lea 导致，7 例由 Rh 系统抗体导致，2 例由抗 Jkb 导致，1 例由抗 Hm 导致，1 例由抗 N 导致。未报道死亡。结论：所有的常见红细胞抗体在中国人中均有报道。抗 K 是非常罕见的。抗 Mur、抗 Dia 具有临床意义。我们建议在中国，抗体筛选细胞上的抗原应包括 AABB 和英国血液学标准委员会推荐的抗原，以及 Dia 和 Mur 抗原。

讨论

大多数商业筛选细胞缺少 K，一些缺少 Mur，还有一些甚至缺少 Fyb。本研究表明，常见的红细胞抗体在中国均有报道。最常见的抗体来自 Rh 系统，这些抗体引起了大部分的 HTRs 和 HDFN。值得注意的是，抗 Mur 是 MNS 血型中第三个最常见的抗体。Mur 和 Mia 是 Miltenberger 系列的两个低频抗原。Mur 在高加索人中很少见，但在东南亚的频率要高得多。据报道，Mur 的频率在泰国为 10%，在中国汉族为 0.9% - 5%，而在一些中国少数民族中频率超过 20%。抗 Mur 有可能引起严重的 HTRs 和 HDFN。在我们的文献综述中，共报道 7 例 HTRs 和 8 例 HDFNs 由 anti-Mur 引起。因此，我国应将 Mur 纳入抗体筛选细胞。Dia 在欧洲和非洲血统的人中非常罕见，但在蒙古血统的亚洲人中，如日本人、中国人和韩国人，频率为 5% - 15%。在中国人中 Dia 的频率约为 3% - 5%。总共报道了 37 例抗 Dia，其中 2 例引起 HTRs，9 例造成严重 HDFN。因为抗 Dia 可能导致严重 HTR 和 HDFN，且 Dia 在中国人中频率较高，所以我国也应将 Dia 纳入抗体筛选细胞。报道了 19 例抗 K，其中 2 例导致 HTR。K 的频率在中国汉族人中小于 0.1%，但在一些少数民族中要高得多，比如维吾尔族频率为 7.0%。考虑到在中国献血的外国人越来越多，抗 K 筛查在中国具有潜在的重要性。大量的 HTRs 和 HDFNs 是由 Lewis 抗体、P 抗体和部分 MNS 抗体(抗 M、抗 N)引起的。Lewis 抗体在临床上通常认为是不重要的，因为 Lewis 抗原是易从红细胞中洗脱的外源性糖脂类抗原。在 18 例 HTRs 中发现了抗 Lea，其中 9 例同时存在其他抗体，9 例只有抗 Lea 被确认。抗 Leb 参与了 5 例 HTRs，在其中 2 例 HTRs 中是鉴定的唯一抗体。因此，抗 Lea 和抗 Leb 在临床上都很重要。在大多数涉及到抗 M 的 HTRs 中，抗 M 与其他抗体一起被鉴定。5 例与抗 N 相关的 HTRs 中有 4 例还涉及其他抗体。虽然我们不知道是否抗 M 或抗 N 导致了这些 HTR，但抗 M 是 3 例 HTR 中唯一的原因，而抗 N 是 1 例 HTR 的唯一原因。虽然抗 M 很少被报道引起 HDFN，但在 49 例涉及抗 M 的 HDFNs 中，有 23 例它是唯一鉴定的抗体。报道了 4 例抗 Lex。Lex 最初由 Andresen 和 Jordal 命名，现在称为 Leabx。它出现在 Le(a+b-)和 Le(a-b+)细胞上，而不是 Le(a-b-)细胞上。报道了 3 例抗 Lua，其中 1 例出现在 HDFN 受试者身上。在该病例中，发现了一种混合型抗体（抗 D）。Lua 是 Lutheran 系统的抗原，在欧洲和非洲人中频率约有 8%，但在其他地方很少见。Lutheran 抗体通常只涉及轻度迟发型 HTRs，不引起严重的 HDFN。报道了 1 例抗 Tja（现改名为抗 PP1Pk）。Tja 是一种非常罕见的表型，在 1955 年被 Sanger 观察到。在 1 例非典型 Oh(OhAB)患者中发现了抗 Hm。Oh 红细胞不被抗 H、抗 A、抗 B，或抗 A,B 凝集。用吸收放散试验在具有“典型 Oh”表型的红细胞上不能检测到 H、A、B 抗原；然而，被称为“非典型性 Oh”表型的红细胞能结合抗 H，可以在放散液中检测到。也可能从这些细胞中吸收放散抗 A 和/或抗 B。本研究提示，中国获准的抗体筛选细胞应含有 AABB 推荐的抗原 D, C, E, c, e, M, N, S, s, P1, Lea, Leb, K, k, Fya, Fyb, Jka, Jkb，以及 Mur 和 Dia。

作为回顾性文献综述，本研究也有局限性。首先，发表偏倚是不可避免的。没有发现任何抗体的研究可能不会发表。其次，研究的时间跨度太长(1963 年至 2014 年)，使得一些数据不可靠且无法追踪；一个典型的例子是在 255 篇文章中报道了 Rh 血型系统的复合抗体，但只有 2 篇文章提到了通过吸附方法对复合抗

体进行区分。对其他报告的复合抗体。我们不知道它们是如何证明的。然而，根据教科书上的说法，复合抗体应该是指吸附作用不可分离的抗体。需要进一步的前瞻性研究阐明低频抗原的频率，以及不规则抗体引起的 HTR 和 HDFN 的频率。

13 《1994-2013 年中国患者人群红细胞同种抗体阳性率及特异性分析》

作者：于洋，王旖，孙晓琳，马春娅，张晓娟，关晓珍，陈麟凤，汪德清

来源：中国实验血液学杂志2015; 23(6) : 1734-1741.

摘要：目的：总结、分析国内患者群体红细胞同种抗体分布特点，为行业制定管理规范提供证据支持。方法：通过中国知识资源总库、中国知网、维普、PubMed 等文献检索系统，分别使用关键词“意外抗体”、“不规则抗体”、“血型抗体”、“溶血性输血反应”以及“新生儿溶血病”检索、分析 1994 年 1 月至 2013 年 12 月期间发表的中文、英文文献。结果：① 在 446 篇病例报道（326 篇同种抗体病例报道、66 篇 HTR 病例报道、54 篇 HDFN 病例报道）和 89 篇回顾性分析中，共有来自于 4800 名患者的 5582 个同种抗体被检索出；IgG 和 IgM 分别占 83.2%（4647/5582）和 16.8%（935/5582）；排在前 10 位最常见的同种抗体依次是抗 E（33.9%）、抗 D（18.3%）、抗 c（10.9%）、抗 M（9.9%）、抗 C（8.1%）、抗 e（4.8%）、抗 Lea（3.4%）、抗 P1（2.0%）、抗 Mur（1.6%）和抗 Jka（1.2%）；3975（82.8%）名患者形成 1 个同种抗体，789（16.5%）名患者形成 2 个同种抗体，31（0.6%）名患者形成 3 个同种抗体，5（0.1%）名患者形成 4 个同种抗体；4800 名患者中，831 名有妊娠史，625 名有输血史，416 名有输血和妊娠史，2928 名未知。② 89 个回顾性分析报告中，住院患者红细胞同种抗体平均阳性率为 0.34%（2041/602846）。③ 在 136 例发生 HTR 的病例报告中，频率最高的同种抗体是 Rh 系统抗体（71.7%），其他抗体主要还包括抗 Jkb（5.9%）、抗 Lea（5.1%）、抗 Jka（3.7%）、抗 M（1.5%）和抗 Mur（1.5%）。④ 580 名 HDFN 患者中，644 例致病抗体主要来自 Rh（93.1%）和 MNS（6.0%）两个血型系统。结论：在中国大陆 RhD 阴性产妇产后 Rh 球蛋白预防性使用应该成为产科常规；对于多次输血患者，推荐使用 C、E、c、e、Jka 和 Jkb 血型抗原均匹配的供者血液；对于 MNS 同种抗体应给予足够的关注；抗体筛选细胞谱中宜包含 Mur+红细胞。

样本：中国大陆输血患者、胎儿、新生儿和孕妇，不包括香港、澳门和台湾。纳入标准：至少有 1 个同种抗体的患者，或由 1 个或多个同种抗体导致的输血期间或输血后 HTR 或 HDFN 患者。排除标准：仅有自身抗体或 ABO 抗体的患者。

14 《Prevalence and specificity of RBC alloantibodies in the general hospitalised population in Guangxi》

《广西普通住院人群红细胞同种异体抗体的频率和特异性》

作者：Mo Z, Li H, Huang L, Jiao W.

来源：Transfus Med. 2015;25(5):313-319.

摘要：目的：本研究的目的是调查广西普通住院人群红细胞同种异体抗体的频率和特异性。背景：红细胞抗原的同种异体免疫是输血治疗的一个主要并发症，同种异体抗体引起许多临床问题，如输血相关的不良

反应。不同地域、不同种族人群红细胞同种抗体的频率和特异性存在差异。然而，广西人群中同种异体抗体的数据有限；因此，我们打算在本研究中对它们进行调查。方法：回顾性分析 2013 年 1 月~2014 年 2 月广西患者红细胞请求记录。检索 20283 名患者的抗体筛选试验数据进行分析。收集临床资料，包括性别、年龄、病史、输血史、妊娠史和同种抗体特异性。结果：对 20283 名患者的数据进行了分析，在 150 名患者（0.74%）中共鉴定出 166 例同种异体抗体。最常见的同种异体抗体为抗 E（39.76%）、抗 Mi（a）/Mur（11.45%）、抗 c（10.84%）、抗 Le（a）和抗 M（6.63%）。抗 D 3 例（1.81%），罕见抗 H 2 例（1.20%）。结论：尽管针对 Rh 系统抗原的同种异体抗体仍然常见，但广西住院患者的红细胞同种异体抗体的频率和特异性与中国其他人群和白种人不同。抗 E 和抗 Mi（a）/Mur 在广西患者中较为常见，而白种人中较多见的抗 K 和抗 D 在我们的患者中较少见。

输血策略：推荐广西血库提供 Rh 和 Mur 抗原相合的红细胞给长期输血患者。

15 《Kidd 血型系统 JK 基因非编码区 3 个新突变位点的多态性》

作者：章昊，安文静，梁爽，苏宇清，洪文旭.

来源：广东医学2019年7月第40卷第13期.

摘要：目的：研究 Kidd 血型系统 JK 基因非编码区 3 个新突变位点的多态性。方法：选取深圳地区和惠州地区发现的 7 例 Jk（a-b-）表型血液标本以及 115 例汉族健康无偿献血者血液标本，经尿素溶解试验及常规血型血清学方法鉴定 Kidd 表现型，并对于 JK 基因启动子、第 1-11 外显子及部分内含子片段进行直接测序比对分析。结果：（1）检出两种 JK 隐性基因，Exon9 c.896 G>A 和 IVS5-1 g>a；同时发现 3 个新的突变位点 Intron2 -51 c>t、Exon3 42 c>a、Intron3 72 c>t。（2）7 例 Jk（a-b-）中，5 例携带 IVS5-1 a/a，2 例携带 Exon9 c.896 A/A 隐性基因。并且 7 例标本均携带 Intron2 -51 t/t 和 Exon3 42 a/a 纯合子等位基因，而对照组 115 例标本中只有 29 例携带。7 例 Jk（a-b-）样本均携带 JKB 基因。（3）7 例 Jk（a-b-）和对照组 115 例样本 JK 基因均表现为 Intron3 72 t/t 纯合子突变。结论：IVS5-1 g>a 和 Exon9 c.896 G>A 是中国人群中常见的 JK 隐性基因。另外，JK 基因非编码区的 2 个新突变位点 Intron2 -51 t/t、Exon3 42 a/a 基因型可能与 JK 隐性基因相关。

基因检测方法：PCR 扩增 JK 基因启动子、第 1-11 外显子及部分内含子片段，经 Microcon-PCR 纯化柱，纯化扩增产物，并将纯化后 PCR 产物，用基因测序试剂盒 Big-Dye™ Terminator Cycle sequencing Ready Reaction kit（美国 ABI 公司），Eppendorf 9700 PCR 扩增仪，进行二次扩增，随后用 ABI3730 测序仪进行序列测定。将测序结果进行拼接及与参比序列比对分析，JK 基因参比序列为 NCBI 基因库 NG_011775.3。

讨论：对于 Kidd 血型系统抗原的鉴定血型血清学方法始终是最快速的检测手段，但 Kidd 血型系统的特殊性，以及弱变异型的存在，血型血清学凝集法对于 Kidd 血型抗原、抗体经常不能检出，造成输血前相容性实验的假阴性，临床上很多交叉配血反应性为阴性，输血后红细胞输注无效或出现严重的输血反应，很大一部分原因是 Kidd 血型系统的抗原抗体误判。因此目前对 JK 基因的基因分型和序列分析，以及国际上先进的二代测序技术，质谱分析技术的应用，可以更好地协助解决血型血清学检测的疑难案例，揭示疑难 Kidd 血型的分子背景，进一步保障了输血的安全性。

表 2 7 例 Jk(a-b-) 与 115 例对照组 Jk 基因内含子 2、3、8 和外显子 3、6、9 单核苷酸位点突变情况

Kidd 血型	例数	Jk 隐性基因	Intron 2	Exon 3	Intron 3	Exon 6	Exon 9	
			-51	42	72	IVS5-1	838	896
Jk(a-b-)	5	IVS5-1g>a	t/t	a/a	t/t	a/a	A/A	G/G
Jk(a-b-)	2	896G>A	t/t	a/a	t/t	g/g	A/A	A/A
Jk(a-b+)	29	/	t/t	a/a	t/t	g/g	A/A	G/G
Jk(a-b+)	17	/	c/t	c/a	t/t	g/g	A/A	G/G
Jk(a+b-)	13	/	c/c	c/c	t/t	g/g	G/G	G/G
Jk(a+b-)	14	/	c/t	c/a	t/t	g/g	G/G	G/G
Jk(a+b+)	42	/	c/t	c/a	t/t	g/g	G/A	G/G

16 《Molecular Genetic Analysis of the Jk(a-b-) Phenotype in Chinese: A Novel Silent Recessive JK Allele》

《中国 Jk(a-b-) 表型的分子遗传分析：一个新的沉默隐性 JK 等位基因》

作者：Zhang A, Chi Q, Lin H, She Y.

来源：Transfus Apher Sci. 2016; 54(2):232-234.

摘要：Jk(a-b-) 表型，称为 Jknull，大多数种群中罕见。特征是红细胞(RBCs)表面无 Kidd 糖蛋白，尿液浓缩能力中度下降。Jknull 表型的分子基础包括编码人类尿素转运蛋白的 JK(SLC14A1) 基因的剪接位点突变、错义突变和部分基因缺失。本研究分析了 10 例无亲缘中国汉族人 Jknull 样本。除了已知的波利尼西亚 Jknull 等位基因外，还检测到 3 个 Jknull 等位基因，其中包括 1 个新的 Jknull 等位基因 JKA(130A, 220G)。

标本：10 例经常规血清学方法和 2 mol/L 尿素溶血试验鉴定为 Jk(a-b-) 表型的无亲缘中国汉族人及其中 1 例的家系（图 1）的 EDTA 静脉血标本。200 例 Jk(a+b-)、Jk(a-b+) 和 Jk(a+b+) 表型汉族献血者 DNA 用于筛选。

基因检测方法：PCR 扩增 JK 基因外显子 1-11 及其各自的侧翼序列和启动子。PCR 产物用 ABI 3730XL 测序仪进行测序。本研究中发现的新突变通过直接测序分析进行筛选。

结果：直接 DNA 测序揭示了一种新的等位基因，SLC14A1 130A, 220G (G130A, E44K; A220G, N74D,

GenBank N.KJ946236)，以及之前报道的 3 种沉默隐性 JK 等位基因：SLC14A1 (IVS5-1g>a)，SLC14A1 130A, 956T 和 SLC14A1 896A。共鉴定了 4 种基因型：JKB (IVS5-1g>a)/JKB (IVS5-1g>a) (n=6)，JKB (IVS5-1g>a)/JKB (130G>A, 956C>T) (n=1)，JKB (IVS5-1g>a)/JKB (896G>A) (n=2)，和 JKA (130G>A, 220A>G)/JKA (130G>A, 220A>G) (n=1)。除新等位基因外，所有这些等位基因在外显子 9 核苷酸 838 处都是 A/A，预测 JKB 背景。基因分型显示，新的 Jknull 等位基因偏离了野生型 JKA 序列。对 200 名中国献血者的 DNA 样

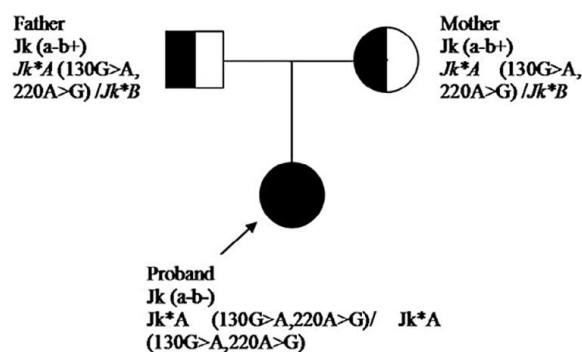


Fig. 1. Family pedigree of the Jknull phenotype. The arrow indicates the proband; black filling indicates homozygosity for the mutant JK allele, and half-black and half-white indicate heterozygote.

本 G130A 和 A220G 突变进行测序筛选。在这 400 个等位基因中，G130A 的频率为 38.25%，而 A220G 的突变未发现。提示在中国人群中，G130A 是常见的单核苷酸多态性，而 A220G 较为少见。

讨论

JK 系统由两个共显性等位基因 JKA 和 JKB 定义, 这两个等位基因分别产生 Jka 和 Jkb 抗原。常见的 Jka/Jkb 多态性是由 G838A 引起, 导致 Asp280Asn。Jk(a-b-) 表型是由于隐性 JK 等位基因(官方命名为 SLC14A1 基因)的沉默, 导致红细胞中没有 Kidd 糖蛋白。

Jknull 表型中, Kidd 糖蛋白的缺失可能来源于 JK 沉默等位基因的纯合遗传, 或者来源于 Jk 抗原表达的未知显性调节因子的遗传。越来越多的研究表明, Jknull 表型主要是由罕见沉默隐性 JK 基因的纯合子引起的。到目前为止, 根据血型抗原基因突变数据库, 有超过 28 个沉默等位基因在不同的民族和国家被报道。

本研究分析了 10 例中国人 Jk(a-b-) 样本, 发现了 4 种 Jknull 等位基因, 包括 1 种剪接突变 JKB (IVS5-1g>a), 导致跳过外显子 6, 以及 3 种错义点突变: JKB (130G>A, 956C>T), JKB (896G>A) 和 JKA (130G>A, 220A>G)。等位基因 SLC14A1 130A, 220G 是一种新的错义突变, 仅在一位献血者体内发现。G130A 和 A220G 突变分别导致 Glu44Lys 和 Asn74Asp。Asn74 是在哺乳动物中高度保守, 序列与人类 SLC14A1 基因同源。因为对 H 血型系统研究发现, 进化保守密码子内错义突变可能影响 H 酶的功能, 所以我们推测 Asn74Asp 可能影响 JK 基因的表达。天冬酰胺是一种极性中性氨基酸, 而天冬氨酸是一种极性酸性氨基酸, 在维持蛋白质的溶解度和离子特性方面起着重要作用。天冬酰胺和天冬氨酸在化学和物理性质上有很大差异。氨基酸交换可能打破电荷平衡, 影响蛋白质结构域或高级构象的形成。此外, 还有报道发生在核苷酸 222 的 C>A 错义突变, 导致 Asn74Lys。推测人 Kidd 糖蛋白中的 Asn74 可能具有重要的功能(原文是 Asp74, 根据上下文推测应为笔误)。新 Jknull 等位基因的另一个突变是 130G>A。先前的研究报道了这种突变与 Jka 抗原表达的减弱或改变有关。我们的结果表明, 130G>A 突变至少在中国人人群中是一种常见的多态性, 并且与 Jk(a-b-) 表型的存在无关。因此, 我们推测 Jk(a-b-) 表型可能与编码 Asn74Asp 的 A220G 突变有关。此外, 家系谱为家系内 Jknull 遗传的隐性形式提供了证据(图 1)。

17 《中国人群 KEL 等位基因 2 例新突变的检出》

作者: 张玉娴, 杨颖, 朱自严.

来源: 中国输血杂志 2007 年 2 月第 20 卷第 1 期.

摘要: 目的: 研究中国人群中 KEL 基因多态性。方法: 用聚合酶链反应-限制性酶切片段-单链构象多态性分析(PCR-RF-SSCP)合并异源二聚体分析, 筛选找出具有不同格局的样本并对其测序, 找出突变位点。结果: 在 500 份随机的中国人群样本中, 发现 2 份样本格局与正常格局不同, 测序显示其核苷酸发生了突变, 分别是 KEL 基因外显子 9 上 1086G>A 和内含子 7 的第 67 位 C>A 点突变, 外显子 9 上碱基突变是同义突变。结论: 在中国人群中检出 2 例新突变的 KEL 基因。

样本: 上海市血液中心 2006 年 1-10 月随机选取上海地区 500 名正常献血者(均为汉族)。

基因检测方法: ① PCR 扩增 KEL 基因外显子 7-9, 扩增产物经 1% 琼脂糖电泳鉴定, 剔除有非特异性产物的样本。② 扩增产物 Pvu II 限制性酶切; 每种样本取 5 μ l 酶切产物为单独管, 3 μ l 酶切产物为异源管, 异源管中分别加入 2 种不同样本, 每个管中均加入等体积 95% 甲酰胺染料, 97 $^{\circ}$ C 加热 10min 后置于冰浴中 10min, 以形成异源二聚体及单链构象; 室温下在 8% 非变性 PAGE 电泳, 凝胶用硝酸银染色。③ 取发现异常格局的样本及部分正常样本, 作 PCR 扩增, 在紫外灯下切取电泳条带, 然后采用试剂盒(PCR rapid purification kit,

博大泰克)溶胶纯化;产物纯化后,分别进行直接双向序列分析。采用 Primer premier 5.0 软件分析测序结果,并通过 BLAST 与正常 KEL 基因外显子 7-9 的序列比较。

18 《A novel IGnT allele responsible for the adult i phenotype》

《一个新的 IGnT 等位基因导致成人 i 表型》

作者: Lin M, Hou MJ, Yu LC

来源: Transfusion. 2006;46(11):1982-1987.

摘要: 背景: 成人 i 型的特征是在红细胞上存在极低水平的 I 抗原、大量 i 抗原(原文摘要写的是“大量 I 抗原”,根据后文推断,应为笔误)。人们已经注意到这种罕见的表型部分与先天性白内障有关。已经证明,人 I 位点表达 3 种 IGnT 形式, IGnTA, IGnTB 和 IGnTC, 并且 IGnTC 基因负责红细胞上 I 抗原的表达。本报告描述 1 例成人 i 型但无先天性白内障的台湾个体的分子遗传学分析。研究设计和方法: PCR 扩增及克隆成年 i 型个体的 IGnT 基因的 5 个外显子区域,并测序。分析了在这例 i 型成人中鉴定的突变体 IGnTC 基因表达的 IGnT 酶的活性。结果: 所示成年 i 个体具有野生型 IGnTA 和 IGnTB 基因,但有 243T>A 核苷酸替代的突变体 IGnTC 基因,预测 Asn81Lys 的氨基酸变化。PCR-限制性片段长度多态性分析表明,该 IGnTC*243A 等位基因在台湾一般人群中并不常见。与野生型 IGnTC 基因表达相比,突变体 IGnTC*243A 表达的 IGnT 酶活性明显降低。结论: 在我们非先天性白内障成人 i 型台湾个体中发现了一种具有 243T>A 错义突变的新颖 IGnTC 等位基因。该成人 i 型病例分子基础与提出的分子遗传机制一致,说明成人 i 型与先天性白内障部分关联。

样本: 1 例由单克隆抗 I 标准血凝试验鉴定的成人 i 表型个体,由日本大阪红十字血液中心赠送。该个体的女儿是 I 型,这 2 例家庭成员都没有白内障。本研究中这 2 例家庭成员和 58 例随机选取的个体均为台湾人。

基因检测方法

(1) IGnT 基因的分子克隆和序列分析: PCR 扩增 IGnT 基因的 5 个外显子区域(1A, 1B, 1C, 2, 3)。用 PCR 克隆试剂盒(Zero Blunt TOPO PCR cloning kit, Invitrogen)将 PCR 产物克隆到 pCR4Blunt-TOPO 载体中,用循环测序试剂盒(BigDye Terminator, Applied Biosystems)测定 DNA 序列。

(2) PCR-限制片段长度多态性分析(RFLP): 由于成人 i 病例 IGnT 基因外显子 1C 的 243T>A 破坏了限制性核酸内切酶 TfiI 的识别序列(GAWTC),因此建立 PCR-RFLP 来证明这个突变。PCR 扩增 IGnT 基因的外显子 1C 得到 1073-bp PCR 产物, TfiI 酶切, 1.5%琼脂糖凝胶电泳分析。

19 《不相容性输血的免疫控制策略》

作者: 左琴琴, 褚晓月, 吴继博, 吴大洲, 毛娟, 张薇薇, 王红, 徐华

来源: 中国输血杂志2019年6月第32卷第6期.

摘要: 目的: 探讨建立解决临床上不相容性输血的免疫控制策略。方法: 血清学检测 2 名拟输血的患者(分别为丙肝肝硬化及妊娠期高血压患者)ABO、Rh、Kidd、Lewis、Duffy 血型;同时对其做不规则抗体的筛查与鉴定;采用基因分型的方法检测患者稀有血型抗原;通过采取不同的免疫控制策略,即主动免疫控制(为患者提供配血试验相合以及抗原相同的血液)及被动免疫控制(提供最低不相合的血液),为患者选择合适的血

液输注。结果：患者 1 血型为 O、RhC-c+D+E-e-、Jk(a-b+)、Le(a+b-)、Fy(a+b+)，存在 IgG 抗 Ce、IgG 抗 Jka；患者 2 为 B、RhC+c+D+E-e+、Jk(a+b-)、Le(a+b-)、Fy(a+b+)，基因分型 Kp(a-b+)，Lu(a-b+)，Di(a-b+)，Wr(a-b+)，Yt(a+b-)，Co(a+b-)，Kn(a+b-)，Do(a-b+)，除了有 IgM 抗 E、IgG 抗 E 外，还存在特异性不明的抗高频抗原抗体；采取免疫控制策略制定不同的输血方案，取得了良好的输血治疗效果。结论：当临床遇到交叉配血不相合但需紧急输血的患者时，采取不同的免疫控制措施后输注相应的血液，可以在提高输血疗效的同时降低输血不良反应的发生，达到及时、安全、有效的输血目标。

病例简介：患者 1：女，53 岁，汉族，2017 年 11 月 24 日转入西安某院，临床诊断上消化道出血，丙肝肝硬化，行门静脉高压分流术及脾切除，有妊娠史(具体不详)，有输血史(最近 1 次为 10d 前)，医院检测抗体筛查阳性，未鉴定抗体特异性，手术急需用血。患者 2：女，28 岁，汉族，于 2018 年 6 月 2 日入西安某院，临床诊断妊娠期高血压疾病，重度贫血原因待查，有妊娠史(G2P2)，有输血史(输血时间分别为 3 年前及 40d 前)，有血浆过敏反应(寻麻疹)，因抗体筛查阳性，交叉配血主侧凝集，患者因改善贫血症状，遂送本实验室进一步鉴定抗体特异性以及交叉配血。

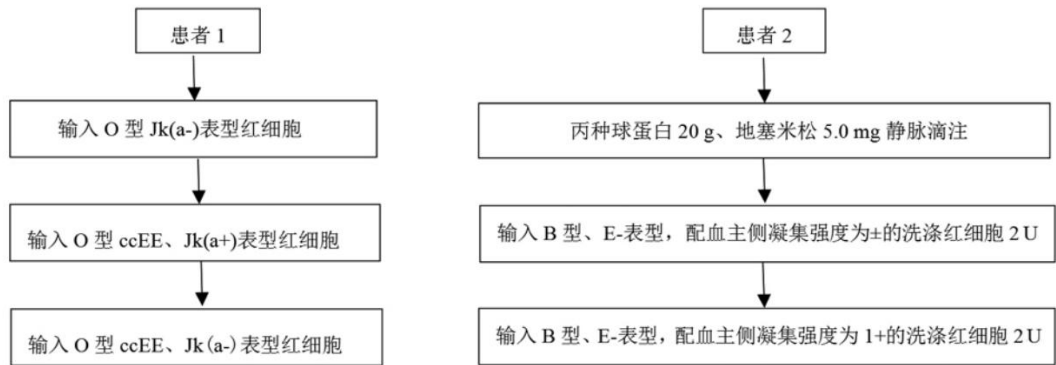
基因分型方法：Diego、Kell、Lutheran、Yt、Colton、Knops、Dombrock 血型使用基因分型的方法进行检测，使用 RBC-Ready Gene Rare ID 试剂盒(批号 S9SP107，德国 Inno-train Diagnostik GmbH)。

表 1 血型血清学鉴定

	ABO 正定型			ABO 反定型			Rh 血型					Kidd 抗原		Lewis 抗原		Duffy 抗原		直抗
	抗-A	抗-B	抗-AB	AC	BC	OC	抗-C	c	D	E	e	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	Fy ^a	Fy ^b	
患者 1	-	-	-	4+	4+	-	-	4+	4+	4+	-	-	2+	2+	-	3+	2+	-
患者 2	-	4+	4+	4+	2+	2+	4+	-	4+	-	4+	2+	-	1+	-	3+	3+	-

表 2 2 位患者不规则抗体的鉴定结果

	Rh-hr						Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				盐水法 抗球蛋白法			
	C	D	E	e	e ^{CW}	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	患者 1	患者 2	患者 1	患者 2	
1 号	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	/	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	-	-	3+	1+
2 号	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	/	+	0	+	w	0	0	+	+	0	+	0	-	-	2+s	1+	
3 号	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	+	+	0	-	2+	-	2+s	
4 号	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	/	+	0	0	+	+	0	0	+	+	0	0	+	-	-	1+s	1+
5 号	+	0	0	0	+	0	+	+	0	+	/	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	-	-	3+	1+	
6 号	0	0	+	+	0	0	0	+	0	+	/	+	+	+	+	0	0	0	+	+	0	+	-	2+	1+	3+	
7 号	0	0	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	-	-	1+s	1+	
8 号	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	-	-	±	1+
9 号	0	0	0	+	+	0	+	+	0	+	/	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	+	-	-	±	1+	
10 号	0	0	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0	-	-	1+	1+	
11 号	+	+	+	0	+	0	0	+	0	+	/	+	+	0	0	+	0	+	+	0	+	0	-	2+	2+	3+	
12 号	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	/	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	-	2+	1+	3+	
13 号	0	0	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	-	-	1+s	1+	
14 号	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	/	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	-	-	3+	1+	
15 号	0	+	+	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	0	+	0	+	+	+	0	+	-	2+	-	3+	
16 号	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	0	+	+	+	+	0	+	-	-	3+	1+	
自身对照																							-	-	-	-	



20《血清学与分子生物学技术鉴定产生抗 D_{ib} 抗体的 Di(a+b-)血型 1 例》

作者：朱于莉，高向阳，刘丽，冯智慧.

来源：临床输血与检验2019年8月第21卷第4期.

摘要：目的：通过血清学实验和分子生物学技术鉴定出 1 例产生抗 D_{ib} 抗体的 Di(a+b-)稀有血型。方法：采用血清学方法对患者进行血型鉴定、直抗试验和不规则抗体筛查及鉴定试验，采用 DNA 测序方法鉴定患者的 Diego 血型基因。结果：患者体内存在抗高频抗原抗体，分子水平确定其为 Di(a+b-)稀有血型，因此其抗体为抗 D_{ib} 抗体。结论：分子生物学鉴定血型基因有助于抗高频抗原抗体的鉴定。

研究对象：女，汉族，孕 16 周，无输血史，孕 3 产 1。因人工流产手术备血发现不规则抗体阳性送检。

血型血清学结果：O，CcDEe，MN，Jk(a+b-)，Fy(a+b-)，Le(a+b+)，DAT 抗 IgG 阴性，抗 C3 阴性。

不规则抗体筛选及鉴定：患者血清与 Sanquin 筛选细胞及谱细胞在试管中直接离心均阴性（盐水介质），IAT 全部 1+（表 2）；与上海血液生物医药有限公司的谱细胞（国谱）盐水介质反应均阴性，IAT 均 1+（表 3）。

表2 患者血清与Sanquin筛选细胞及谱细胞反应格局

	Rh-Hr					Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luther.			试管法		
	C	D	E	c	e	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	Pl	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg ^a	IS	IAT	
I	+	+	0	0	+	0	+	0	+	/	+	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	0	1+
II	0	+	+	+	0	0	+	0	+	/	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	1+	
III	0	0	0	+	+	+	0	0	+	/	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0	0	1+	
1	+	+	0	0	+	+	+	0	+	/	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	0	0	1+	
2	+	+	0	0	+	+	+	0	+	/	+	+	0	0	+	+	0	0	0	+	0	0	+	0	+	+	0	1+
3	0	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	0	1+	
4	0	+	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	0	+	+	0	1+	
5	+	0	0	0	+	0	+	0	+	/	+	0	+	+	0	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	1+	
6	0	0	+	+	0	0	+	0	+	/	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	1+	
7	0	0	0	+	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	0	1+	
8	0	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	+	0	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	1+	
9	0	0	0	+	+	0	+	0	+	/	+	+	0	0	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	1+
10	0	0	0	+	+	0	+	0	+	/	+	0	+	+	+	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	0	1+	
11	+	+	+	0	+	0	+	0	+	/	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	+	+	0	1+	
自身																										0	0	

表3 患者血清与国谱的反应

	Rh-Hr					Kidd		MNSs					Duffy		Diego		Kell		Lewis		P	DO		Yt		试管法	
	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	Pl	DO ^a	DO ^b	Yt ^a	Yt ^b	IS	IAT
1	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	1+
2	+	0	+	+	0	0	+	+	+	0	+	/	+	0	/	/	/	/	0	+	0	/	/	/	/	0	1+
3	+	+	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	+	/	0	/	+	/	+	/	/	/	/	0	1+
4	+	+	0	0	+	+	0	+	0	0	+	/	+	0	/	/	/	/	0	+	+	/	/	/	/	0	1+
5	+	0	+	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	0	1+
6	+	+	+	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	+	0	0	+	+	0	0	1+
7	0	0	0	+	+	+	+	+	+	0	+	/	+	0	/	/	/	/	0	+	+	/	/	/	/	0	1+
8	+	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	/	+	0	/	/	/	/	+	+	+	/	/	/	/	0	1+
9	0	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	+	0	0	0	+	+	0	0	1+
10	+	+	0	0	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	0	/	0	/	0	+	+	/	/	/	/	0	1+

血型 DNA 测序结果: Diego 基因外显子 PCR 测序的特异性引物参考 NCBI 序列, Primer premier 5.0 设计, Life Technologies 公司合成。应用 3100-Avant 型测序仪进行 PCR 直接测序, 结果采用 GENTle 软件进行序列分析。Diego 基因的外显子测序结果与 GenBank 标准序列比对后, 发现 Exon19 的 nt2561 位置为 TT 纯合, 在分子水平确定该患者为稀有 Di(a+b-)血型个体。

讨论

患者不规则抗体筛查和鉴定均呈现无明显差异的阳性结果, 但自身反应阴性, 这种反应格局提示该患者体内存在抗高频抗原的抗体, 且特异性难以确定, 其本人应为缺乏高频抗原的稀有血型。针对中国人群稀有血型抗原的分布频率, 我们推测可能为 Diego 等血型系统。由于缺乏相应的商品化抗体, 我们无法在血清学水平确定该患者的血型表型, 因此借助分子生物学从 DNA 水平来检测血型基因。通过对 Diego 系统外显子的测序结果分析, 确定该患者为罕见的 Di(a+b-)血型个体, 从而可以确认其体内产生的抗高频抗原的抗体应为抗 Dib 抗体, 鉴于该患者无输血史, 其产生不规则抗体的原因应为妊娠免疫刺激。

稀有血型的个体一旦通过妊娠或输血免疫刺激产生了抗高频抗原的抗体, 血清学水平进行不规则抗体鉴定极为困难。目前国内谱细胞(上海血液生物医药有限公司)和国外谱细胞(Immucor、Sanquin、Oxiod 等公司)均不包含 Di(b-)细胞, 同时抗 Dib 抗体又无商品化产品, 这给患者血型及抗体鉴定带来了困难, 只能借助于分子技术, 在 DNA 水平鉴定血型基因。常见的技术包括序列特异性引物-聚合酶链反应(PCR-SSP)和 DNA 测序, PCR-SSP 适于大规模筛选, 但确认仍需测序。稀有血型个体产生抗高频抗原的抗体后, 一旦需要输血, 往往短时间内难以找到相合的献血者。抗 Dib 抗体一般为 IgG1 或 IgG3 性质, 可以通过胎盘造成新生儿溶血病, 也可以造成溶血性输血反应, 因此, 只能输注 Di(b-)表型同型血。按照目前的试剂和技术水平, 短时间内筛选出 Di(b-)表型血液十分困难, 一般在其父母、子女或兄弟姐妹等亲属中寻找配合血液的概率相对较高, 提示各地区积极参与建立稀有血型库的工作十分重要, 对满足稀有血型患者的输血要求具有重大意义。

21《罕见的 LW 不规则抗体分析及输血策略——附 1 例报道并文献复习》

作者: 杨乾坤, 王莉, 孔永奎, 谢莹, 刘雪, 常艳丽, 杨淑森, 朱迪, 王雅芳。

来源: 中国输血杂志2019年2月第32卷第2期。

摘要: 目的: 准确鉴定患者抗体类型, 制定更为安全科学合理的输血方案。方法: 使用试管法和微柱凝胶法分别进行血型正反定型, 用 Rh 血型为 ccdee 红细胞进行吸收放散试验, 再分别用二硫苏糖醇(DTT)处理和

未经处理的 RhD 阳性红细胞与放散液进行反应，鉴定患者所含不规则抗体。结果：未经 DTT 处理的 RhD 阳性红细胞与放散液反应呈阳性，经 DTT 处理的 RhD 阳性红细胞与放散液反应呈阴性。结论：患者体内所含不规则抗体为抗 LW，而非抗 D，为其输注用抗球蛋白法筛选出的凝集最弱的 RhD 阳性红细胞安全有效。

标本来源：患者，男，19 岁，汉族，A 型 RhD 阳性，于 2018 年 7 月 25 入住郑州大学第一附属医院血液内科，临床诊断为贫血待查(后期诊断为自身免疫性溶血性贫血)，无输血史，无药物过敏史，HGB 52g/L，申请悬浮红细胞 2U。

结果

(1) 血型血清学检测结果：患者为 A 型 RhD 阳性，见表 1。

表 1 血型血清学检测结果

标本	抗血清			试剂红细胞			
	-A	-B	-D	Ac	Bc	Oc	自身细胞
患者	4+	0	4+	0	3+	0	0

表 2 抗体筛查结果

	I	II	III
37℃ 15 min	3+	3+	3+

(2) 抗体筛查(无 RhD 阴性红细胞)结果：患者体内存在温自身抗体，全凝集，无格局，见表 2。

(3) 直接抗球蛋白试验结果：多抗、单抗(抗 IgG)的凝集强度均为 3+。患者体内存在自身抗体。

(4) 16 系谱细胞抗体鉴定结果：患者体内存在类抗 D 即抗 LW 或自身抗 D，见表 3。

表 3 16 系谱细胞抗体鉴定结果

	Rh-Hr	Rh-Hr								Kell						Duffy		Kidd		Lewis		P	MNS				Luther			Xg	IAT	
		C	D	E	c	e	C ^w	f	V	K	k	Kp ^a	Kp ^b	Js ^a	Js ^b	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b	Le ^a	Le ^b	P ₁	M	N	S	s	Lu ^a	Lu ^b	Xg ^a			
1	R _{1w} R ₁	+	+	0	0	+	+	/	/	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	0	+	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	3+
2	R ₁ R ₁	+	+	0	0	+	0	/	/	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	3+
3	R ₂ R ₂	0	+	+	+	0	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	3+
4	R ₀	0	+	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	0	0	+	0	+	0	+	0	+	0	+	+	3+
5	r ⁺ r ⁺	+	0	0	0	+	0	/	/	0	+	0	+	/	+	+	+	+	+	0	+	+	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0
6	r ⁺ r ⁺	0	0	+	+	0	0	/	/	0	+	0	+	/	+	+	+	0	+	+	0	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0
7	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	+	0	0	+	/	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+	0	+	0	0
8	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0
9	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	+	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	+	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0
10	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	/	+	+	0	w	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	+	0	
11	R ₂ R ₁	+	+	+	0	+	0	/	/	+	+	0	+	/	+	+	+	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	+	+	+	+	3+
12	R ₂ R ₂	w	+	+	+	0	0	/	/	0	+	+	+	/	+	+	0	+	+	0	+	+	+	+	+	+	0	+	+	+	+	3+
13	rr	0	0	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	+	+	+	0	+	0	+	+	0	+	0	+	0	+	+	0
14	R ₁ R ₂	+	+	+	+	+	0	/	/	0	+	0	+	/	+	+	0	0	+	+	0	+	+	+	0	+	+	+	+	+	0	3+
15	r ^w r	+	0	0	+	+	+	/	/	0	+	0	+	/	+	0	+	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0
16	r ⁺ r	+	0	0	+	+	0	/	/	0	+	0	+	0	+	+	+	+	0	0	+	0	+	0	+	+	0	+	+	0	+	0

(5) 吸收放散试验结果：显示此抗体对应的抗原被 DTT 破坏，见表 4。

表 4 O 型 ccdee 红细胞放散液与用 DTT 处理前后的 O 型 RhD 红细胞反应结果

O 型 ccdee 红细胞	O 型 RhD 阳性红细胞	
	DTT 处理前	DTT 处理后
放散液	2+	0

讨论

LW 抗原是位于红细胞膜上的一类糖蛋白抗原，是细胞间粘附分子，属于免疫球蛋白超家族成员。它虽与 Rh 抗原不在同一蛋白上，但表达需要 Rh 抗原的辅助，其表达与 RhD 表达量呈正相关。对成人人群而言，LW 抗原在 RhD 阳性红细胞上的表达强于 RhD 阴性红细胞，Rhnull 表现型缺乏所有 Rh 抗原，也缺乏 LW 抗原，所以抗 LW 很容易被误认为抗 D。相对于 RhD 阳性红细胞，RhD 阴性红细胞表达 LW 抗原虽然弱，但并

不是完全没有，可以通过相关试验加以区分。

本案例患者患有自身免疫性溶血性贫血，直接抗球蛋白试验结果为（3+），抗体筛查结果为 I（3+）II（3+）III（3+），未能鉴定出抗体的特异性。16 系谱细胞（不显示 LW 抗原谱）鉴定结果显示患者体内存在类抗 D（即抗 LW）或自身抗 D。抗 D 的产生主要是因输血或妊娠等免疫刺激引起，而该患者为 19 岁男性，无输血史，理论上不应产生抗 D。D 抗原和 LW 抗原的区别在于：1）在 Rh 分型为 ccdee 的红细胞上不含 D 抗原，但含少量的 LW 抗原，所以能吸收并放散抗 LW，但不能吸收并放散抗 D。2）DTT 能破坏 LW 抗原而不能破坏 D 抗原。这是由于在 LW 抗原肽链上存在的 3 个二硫键（Cys69/Cys113, Cys153/Cys210, Cys73/Cys117）对 DTT 敏感。鉴于此，进一步用 O 型 Rh 分型为 ccdee 红细胞进行吸收放散试验，再分别用 DTT 处理前后的 O 型 RhD 阳性红细胞与放散液进行反应。未经 DTT 处理的 RhD 阳性红细胞与放散液反应呈阳性，经 DTT 处理的 RhD 阳性红细胞与放散液反应呈阴性，说明患者体内所含不规则抗体是抗 LW 而非抗 D。

Levine 等认为抗 LW 是 AIHA 阳性 DAT 病例中最常见的抗体。2 项对 14 例 AIHA 患者红细胞放散液的调查结果显示，12 例放散液含有抗 LW，其中 1 例仅含有抗 LW。因为患者红细胞在盐水介质中不凝集，只在抗球蛋白存在时才凝集，说明所含抗体为 IgG 抗体，与文献报道的抗 LW 主要是 IgG 抗体是一致的。虽然抗 LW 在 AIHA 患者体内常见，但并未见引起溶血性输血反应（HTR）和新生儿溶血病（HDFN）。有文献报道，许多患者已经成功输注交叉配血不相容的 RhD 阴性红细胞。另有文献报道，即使体内含较强抗 LW^{ab} 的母亲，她的 RhD 阴性婴儿也未引起 HDFN。已经进行的体外吞噬试验或体内红细胞存活研究结果显示，输血时使用 RhD 阴性细胞是有效的。但也有文献报道输注 RhD 阳性红细胞也是安全有效的。**考虑到 RhD 阴性红细胞稀缺，结合文献报道，我们对本例患者采取了输注用抗球蛋白法筛选出的凝集最弱的 RhD 阳性红细胞 2U。结果显示，患者输注后血红蛋白由 52 g/L 升到 65 g/L，间接胆红素由输血前的 33.9 μmol/L 下降到输血后的 17.6 μmol/L，表明体内含抗 LW 的患者输注 RhD 阳性红细胞后未引起 HTR，输血安全有效。鉴于此，临床实践中没必要非得为这类患者提供资源稀缺且价格昂贵的 RhD 阴性红细胞，从而避免因等待血源而延误其输血治疗和增加经济负担。因此，在输血前检测过程中，精准区分抗 LW 和抗 D 有助于为患者及时制定更为安全科学合理的临床输血方案。**

22 《P1PK 血型不合引起胎死宫内的罕见病例研究 1 例》

作者：拓冬冬，岳彩娟，林裕翔。

来源：中国输血杂志2019年7月第32卷第7期。

摘要：目的：分析 1 例胎死宫内患者血型血清学及分子生物学特点，明确患者血型及不规则抗体类型。方法：采用血清学方法对患者的 ABO、P1PK 血型及不规则抗体进行鉴定；对编码 P1PK 抗原形成关键酶的α1,4-半乳糖基转移酶基因(A4GALT)进行测序，分析 DNA 序列，确定突变位点。结果：血清学实验证实患者为 P1PK 血型系统的 p 表型，患者血清中存在抗 PP1PK；测序结果显示，患者的 A4GALT 编码区出现 304-305insG 突变。结论：患者为 P1PK 血型系统的 p 表型，其 A4GALT 基因突变类型为 304-305insG，患者体内的抗 PP1PK 可能为其胎死宫内的原因。

标本来源：患者，女，35 岁，孕 27 周，汉族。ABO 血型 A 型，Rh 血型 CcDEe，无输血史，否认家族病史。由于胎死宫内由外院转入我院行引产术，曾有过多次流产史。实验室检查：NEUT%：81%，RBC：2.89×10⁹/L，

Hb: 61g/L, MCV: 73.8fL, ALB: 38.8g/L。用药史: 依沙吖啶, 米非司酮。

结果

(1) ABO、Rh 血型鉴定: 患者 ABO 血型正反定型不符, 正定型 A 型、反定型 O 型, Rh 血型为 CcDEe(表 1)。根据血型检测的格局, 考虑为同种异型抗体引起的反定型异常, 将患者血清与 3 人份 O 型红细胞 4℃吸收 1h, 吸收后的血清反定型为 A 型。

	表 1 患者 ABO 血型鉴定结果						
	正定型			反定型			
	抗-A	抗-B	抗-D	A1c	Bc	Oc	自身 c
立即离心	4+	0	4+	3+	4+	4+	0
37℃15 min	4+	0	4+	3+	4+	4+	0

	患者血清与筛选细胞反应			
	I c	II c	III c	自身 c
盐水介质	4+	4+	4+	0
IAT	4+	4+	4+	0
37℃15 min	H	H	H	0

注: “H”表示完全溶血

(2) 不规则抗体筛查: 患者血清分别与不规则抗体筛查试剂红细胞(I 细胞 P1 抗原阴性, II、III 细胞 P1 阳性)反应, 结果一致, 盐水介质(1000g 立即离心)及间接抗人球蛋白条件下与 I c、II c、III c 均阳性; 37℃放置 15min 后, 呈现完全溶血结果(表 2)。

(3) 不规则抗体特异性鉴定: 患者血清分别与 16 人份谱细胞(P1 抗原阴性 3 个, P1 抗原阳性 13 个)反应, 结果一致, 盐水介质(1000g 立即离心)及间接抗人球蛋白条件下均为阳性; 37℃放置 15min 后, 呈现完全溶血结果; 将患者血清以 2-Me 试剂灭活后检测 IgM 抗体, 盐水介质下均为阴性, 再以间接抗人球蛋白试验检测, 结果均为阳性(表 3)。

	表 3 患者不规则抗体特异性鉴定结果																
	患者血清与鉴定谱细胞反应																自身
IS	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	0
IAT	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	0
37℃15 min	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H	0
2-Me 处理 IS	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
IAT	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	4+	0

注: “H”表示完全溶血

(4) 患者红细胞表面稀有血型抗原的鉴定: 用患者红细胞分别与几种稀有血型抗原的抗血清反应, 发现患者红细胞与高频抗体抗 Tja(抗 PP1PK)反应阴性, 与其他高频抗体反应结果均阳性, 初步判定患者为 p 表型。

(5) 效价测定: 患者血清中 IgG 型抗 Tja(抗 PP1PK)效价为 64。

(6) A4GALT 基因测序结果: 委托江阴力博公司完成。将患者样本测序结果与参考序列(GenBank AJ245581)比对, 患者的 A4GALT 基因在编码区 304-305 位插入一碱基 G(304-305insG), 其余测序区与参考序列一致。

讨论

血型不合引起的习惯性流产中以 ABO 及 Rh 血型不合为主, P1PK 血型不合引起的习惯性流产临床上罕见。P 血型系统最早由 landsteier 等研究发现, 经过几次重命名和分类, 目前, P 血型系统更名为 P1PK 血型系统(编号 003), 该系统包括 P1, PK, NOR 3 种抗原, 它们有共同的分子基础, 即由 A4GALT 基因所编码的 α 1,4 半乳糖基转移酶 (α -4Gal-T 酶) 决定其合成。据查, 缺乏 P1PK 系统所有抗原的 p 表型是 1 种极其罕见的血型, 在欧洲人中每百万人中仅有 5.8 例, 而在我国人群中的分布频率则低于百万分之一。这种 p 表型由于缺乏固有抗原而具有抗 PP1PK, 该抗体可凝集除 p 表型外的所有表型红细胞, 当其经胎盘进入子体时, 可与胎儿红细胞结合引起胎儿新生儿溶血病, 导致妊娠期妇女的习惯性流产, 具有重要的临床意义。

A4GALT 基因定位于染色体 22q13.2，不同人群中可出现点突变，插入突变或缺失突变，大多数突变发生在外显子 3 上。本文案例中患者由于该基因编码区出现 304-305insG 突变， α -4Gal-T 酶无法合成，导致 P1、PK 及其下游 P 抗原丢失形成罕见的 p 表型，在该区域的 insG 突变目前尚未见文献报道。

本例患者正定型为 A 型，反定型与 A、B、O 细胞均凝集，自身对照不凝集，正反定型不一致。患者血清与所有抗体筛选细胞和全部谱细胞在盐水介质和抗人球蛋白实验均出现阳性反应，用 2-Me 试剂处理血清后盐水介质实验阴性，抗人球蛋白法实验仍为阳性，说明患者血清中同时存在 IgM 和 IgG 性质的不规则抗体。IgM 性质的抗体导致了患者血型正反定型不一致，IgG 性质的抗体可能是通过胎盘屏障进入胎儿体内造成宫内死胎的原因。

p 表型患者需要输血的话应优先选择自体输血，无条件自体输血的患者应选择 ABO 血型相同的 p 表型红细胞进行输注。但 p 表型在我国人群中极为罕见，很难找到相配合的血液。告知患者术前无法备血后患者要求转院进行引产手术，幸患者手术顺利，术中未用血，贫血状态补充铁剂治疗有效，病情好转后出院。

附表：中国各地区的稀有血型系统抗体筛查情况

血型系统	抗体鉴定	例数	IgG	IgM	IgG+IgM	IgG/IgM	妊娠史	输血史	妊娠+输血史	妊娠/输血史	地区	总样本情况说明	文献编号
MNS	抗 M	12	3	8	1		1	1	0		武汉	344 例 HDN	2
		2					1	1	0		开封	3560 例 HDN	4
		3	0	3	0					2	河南	68742 例输血患者中 54 例 HTR	8
		27				27					青岛	产前检查不规则抗体初筛阳性 130 例孕妇	10
		10					3 次	0			上海	7381 名孕妇中, 32 例检出不规则抗体	11
		1441										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		30										565 篇文献, 693 例 HTR	
		49										565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		550	117	433							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		2	0	2	0		0	0	0		除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
		28					15	0	1		除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
		11									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
	抗 N	1	1	0	0					1	河南	68742 例输血患者中 54 例 HTR	8
		1		1							青岛	产前检查不规则抗体初筛阳性 130 例孕妇	10
		118										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		5										565 篇文献, 693 例 HTR	
		1										13 例急性 HTR	
		8										565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		32	2	30							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		1	1	0	0		0	1	0		除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
		1					0	0	0		除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
		8									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
	抗 S	38										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12

		5									565 篇文献，693 例 HTR	13
		4									565 篇文献，1548 例 HDFN	
		20	20	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	
		3					1	1	0	除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
	抗 s	14									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		3	3	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
	抗 Mur	1	0	1	0		0	0	0	武汉	344 例 HDN	2
		143									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		8									565 篇文献，693 例 HTR	
		9									565 篇文献，1548 例 HDFN	
		87	35	52						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		2	0	0	2		0	2	0	除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
		3					3	0	0	除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
	抗 Mia	48									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		2	2	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
	抗 Mia/Mur	19								广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
Lewis	抗 Lea	1	0	1	0		0	1	0	武汉	344 例 HDN	2
		2								西安	2311 例 HDN	7
		2	0	2	0				0	河南	68742 例输血患者中 54 例 HTR	8
		12				12				青岛	产前检查不规则抗体初筛阳性 130 例孕妇	10
		4					1-2 次	0		上海	7381 名孕妇中，32 例检出不规则抗体	11
		462									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		18									565 篇文献，693 例 HTR	
		3									13 例急性 HTR	
		1									565 篇文献，1548 例 HDFN	
		192	67	125						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		7	7	0	0		2	4	1	除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
		1	0	1	0		0	1	0	除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	

		1					1	0	0		除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
		14									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
	抗 Leab	3	1	2							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		1	0	1	0		1	0	0		除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
	抗 Leb	1									西安	2311 例 HDN	7
		2				2					青岛	产前检查不规则抗体初筛阳性 130 例孕妇	10
		140										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		5										565 篇文献, 693 例 HTR	
		0										565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		54	2	52							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		2									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
	抗 LebH	3	2	1							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		1	1	0	0		0	1	0		除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
	抗 Lex	4										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		1										565 篇文献, 693 例 HTR	
		0										565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		1	0	1							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
Kidd	抗 Jka	1	1	0	0		0	1	0		武汉	344 例 HDN	2
		1					1	0	0		开封	3560 例 HDN	4
		4									西安	2311 例 HDN	7
		2	2	0	0					2	河南	68742 例输血患者中 54 例 HTR	8
		203										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		10										565 篇文献, 693 例 HTR	
		3										565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		66	62	4							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		5	5	0	0		0	3	2		除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
		1					1	0	0		除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
		4									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14

	抗 Jkb	1	1	0	0		0	1	0		武汉	344 例 HDN	2
		111										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		18										565 篇文献, 693 例 HTR	
		2										13 例急性 HTR	
		9										565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		51	50	1							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		8	8	0	0		0	0	8		除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
		2									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
	抗 Jk3	1	1	0	0		0	1	0		武汉	344 例 HDN	2
		3	3	0							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
Duffy	抗 Jsa	2	2	0							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	
	抗 Fya	1	1	0	0		0	1	0		武汉	344 例 HDN	2
		36										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		0										565 篇文献, 693 例 HTR	
		2										565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		16	16	0							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		1	1	0	0		0	0	1		除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
		1					0	1	0		除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
		1									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
	抗 Fyb	1					1	0	0		开封	3560 例 HDN	4
		88										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		21	21	0							除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		2									广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	14
Diego	抗 Dia	1	1	0	0		0	1	0		武汉	344 例 HDN	2
		1									西安	2311 例 HDN	7
		1					1 次	0			上海	7381 名孕妇中, 32 例检出不规则抗体	11
		37										文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		2										565 篇文献, 693 例 HTR	

		9									565 篇文献，1548 例 HDFN	13
		4	4	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	
		1				0	1	0		除港澳台	文献综述 580 名 HDFN 患者	
		1								广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	
	抗 Dib	13									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		0									565 篇文献，693 例 HTR	
		2									565 篇文献，1548 例 HDFN	
		3	3	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	
	抗 Wra	1				2 次	0			上海	7381 名孕妇中，32 例检出不规则抗体	11
Kell	抗 K	19									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		2									565 篇文献，693 例 HTR	
		0									565 篇文献，1548 例 HDFN	
		6	6	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	
	抗 Kpa	4									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		2	2	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
P1PK	抗 P1	3		3						青岛	产前检查不规则抗体初筛阳性 130 例孕妇	10
		344									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		6									565 篇文献，693 例 HTR	
		0									565 篇文献，1548 例 HDFN	
		112	6	106						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
		1	1	0	0		0	0	1	除港澳台	文献综述 136 名 HTR 患者	
	抗 PP1Pk	1	1	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	12
		1									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	
H/I	抗 H	46									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	13
		4	0	4						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	
		2								广西	20283 名患者中 150 名检出 166 例同种抗体	
	抗 HI	4		4						青岛	产前检查不规则抗体初筛阳性 130 例孕妇	10
		39	0	39						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13

	抗 Hm	1									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		1									565 篇文献, 693 例 HTR	
		1									13 例急性 HTR	
		0									565 篇文献, 1548 例 HDFN	
	抗 I	8	0	8	0				5	河南	68742 例输血患者中 54 例 HTR	8
		58									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		27	0	27						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
Lutheran	抗 Lua	3									文献综述 6102361 人中 14095 人检出同种抗体	12
		0									565 篇文献, 693 例 HTR	
		1									565 篇文献, 1548 例 HDFN	
		1	1	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	13
	抗 Lub	1	1	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	
Xg	抗 Xga	2	2	0						除港澳台	文献综述 4800 人检出 5582 个同种抗体	

下期主题: ABO 最近研究



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