

一例少见的溶血性抗-Le^a抗体的检测与输血策略的探讨

潘燕 向东

Lewis抗体是一种常见的天然抗体,通常认为在输血中意义不大。然而近年来,国内有报道Lewis血型抗体引起的严重溶血性输血反应^[1],但目前关于Lewis抗体造成严重输血反应的机理尚未完全明确。有研究证明,Lewis抗体能有效地激活补体甚至导致红细胞溶血^[1,2]。近期在抗体鉴定过程中因盐水介质中溶血,发现1例溶血性抗-Le^a抗体,为研究抗-Le^a抗体激活补体能力以及可能有效的输血策略,本次研究完成了相关试验,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 患儿,男,17岁,因左腿疼痛、麻木伴局部肿块,诊断为左胫骨骨肉瘤。因血红蛋白72 g/L,不规则抗体筛查阳性,无输血史,无用药史,为求进一步抗体鉴定及交叉配血,将患者血标本送至上海市血液中心血型参比实验室。

1.2 试剂与仪器 单克隆抗-A、抗-B,多特异性抗球蛋白,抗-IgG,抗-C3 d,巯基乙醇试剂均来自上海血液生物医药有限公司。抗-Le^a(由荷兰Sanquin公司生产),抗-Le^b(由荷兰Sanquin公司生产),进口抗体鉴定细胞(由匈牙利REAGENS公司生产),微柱凝胶卡为伯乐多抗卡(由美国BIO-RAD公司生产)。混合AB血清来自20个随机的抗体筛查阴性的个体(经补体灭活),均为献血者酶免检测剩余样本;新鲜Le(a-b-)AB血清为献血者酶免检测剩余样本;O型Le(a+b-)抗体筛查阴性的细胞为献血者检测剩余样本。KA-2200离心机(由日本久保田生产)。

1.3 血型鉴定 参照《全国临床检验操作规程》第五版及试管法操作说明、Lewis血型试剂说明书,鉴

定ABO及Rh(D)血型、Lewis血型。

1.4 直接抗球蛋白试验 参照《全国临床检验操作规程》第五版及直接抗人球蛋白试验操作规程。测定用试管抗球蛋白法。

1.5 不规则抗体鉴定 用该患者血清与11人份抗体鉴定细胞分别在伯乐抗人球蛋白卡中37℃孵育15 min离心、试管法盐水介质立即离心,根据凝集结果鉴定不规则抗体。

1.6 IgG、IgM抗体分类 参照巯基乙醇(2-Me, 0.2 mol/L)使用说明书,并设置阴性对照,进行抗体类型鉴定。

1.7 效价测定 参照19版AABB手册操作规程及判读方式。均采用试管法倍比稀释,加入等量3%红细胞悬液,每管转混合液40 μL加入微柱凝胶卡离心观察结果。效价测定细胞均为Le(a+b-)红细胞。

1.8 不同标本体外补体致敏试验及效价测定 筛选新鲜O型Le(a+b-)RBC抗体筛查阴性,0.9%生理盐水洗涤3次,配制成3%的红细胞悬液,分别取患者血清(实验组1),EDTA抗凝血浆(实验组2),用2-Me 37℃处理10 min后的血清(实验组3),56℃30 min灭活补体的血清(实验组4),分别标记4套试管,实验组1取50 μL 0.9%生理盐水倍比稀释患者血清,每管加入50 μL 3% RBC悬液。取30 μL转伯乐卡测效价;剩余70 μL各管加入35 μL新鲜Le(a-b-)AB血清(加补体),37℃,30 min,三次洗涤红细胞配成3%红细胞悬液,转30 μL伯乐卡测凝集效价,其他组参照实验组1步骤进行平行实验。

1.9 血浆中和试验 取50 μL混合AB血清倍比稀释,每试管中加入50 μL患者血清,室温中和30 min,用Le(a+b-)细胞测中和后的抗-Le^a抗体效价。取50 μL患者血清倍比稀释,每试管中加入50 μL混合AB血清,室温中和30 min,用Le(a+b-)细胞测中

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2024.008.025

作者单位:324000 浙江衢州,衢州市人民医院(温州医科大学附属衢州医院)输血科

通讯作者:向东,Email:xiangdong@sbc.org.cn

和后的抗-Le^a抗体效价。

2 结果

2.1 血型鉴定 该患者血型为B(+),Le(a-b-)

2.2 直接抗球蛋白试验 该患者直接抗球蛋白试验结果为多抗(-)、抗-IgG(-)、抗-C3 d(-)。

2.3 不规则抗体鉴定 该患者盐水试管法及微柱凝胶卡中均检出抗-Le^a抗体,均有溶血现象。

2.4 抗体类型 该患者用微柱凝胶卡法测定2-Me处理后血清与Le(a+b-)细胞反应为阴性,提示抗-Le^a抗体为IgM类。

2.5 效价测定 血清效价:2,血清(1×)有溶血;血浆盐水效价:2,无溶血。血清(2-Me处理后)盐水效价:<1;血清(灭活补体)效价:2,无溶血。具体结果见表1。

表1 不同血样体外补体致敏及介导补体活化试验及效价测定

效价	实验组1	实验组2	实验组3	实验组4
起始效价	2	2	<1	2
溶血效价	1	0	0	0
加补体后效价	64	8	1	8
溶血效价	8	0	0	0

2.6 体外补体致敏试验 实验组1:凝集效价:64,溶血效价:8。实验组2:凝集效价:8,无溶血。实验组3:凝集效价:1,无溶血。实验组4:凝集效价:8,无溶血。具体结果见表1。

2.7 血浆中和试验 混合AB血清(2×)以内可以部分中和抗-Le^a抗体。患者抗-Le^a血清的效价是2,经混合AB血清室温中和后,效价仍是2,但是抗-Le^a血清(1×)凝集强度由原来的4+降至2+s。具体结果见表2。

表2 血浆中和试验

组别	1×	2×	4×	8×	16×	32×	64×	128×
实验组5	2+	2+s	3+s	3+s	3+s	3+s	3+s	3+s
实验组6	2+s	1+	0	0	0	0	0	0

3 讨论

Lewis血型抗原是一种较为常见的红细胞膜外I型糖链抗原,Lewis血型抗原的表达主要受到FUT2(Se)和FUT3(Le)基因的调控,编码Le^a和Le^b两种主要抗原,以及四种表型^[3,4]。Lewis血型抗原为可溶性物质,存在于血浆和分泌液中,红细胞表面Lewis抗原来自血浆中Lewis血型物质的吸附,红细胞本身不表达Lewis抗原^[5,6]。

Lewis抗体一般出现在Le(a-b-)血型个体的血

浆中,抗-Le^a常常是自然发生的,以IgM为主,仅存在IgG型的抗-Le^a抗体的情况罕见,供血者血浆中的Lewis抗原可能中和受血者体内的Lewis抗体^[7]。因此有学者认为,有Lewis抗体的患者可以输注37℃交叉配血相容的血液。国内也有Lewis血型抗体引起溶血性输血反应的报道,这些抗体可以结合补体,引起体内溶血,可能造成严重的溶血性输血反应。因此,Lewis血型抗体应引起输血工作者的重视。

本例患者Lewis血型为Le(a-b-),既往无输血史,推测为自然产生的IgM类抗-Le^a抗体。实验组1结果显示,新鲜血清在体外致敏补体及介导补体活化试验中能增强红细胞溶血,溶血效价高达8,增加3管。凝集效价达64。溶血效价可用于评估患者血清诱导(补体介导)的红细胞溶血的能力,如果离心后的上清因血红蛋白的释放而变成红色,则为阳性,若仍然为无色,则结果为阴性。这种方法属于半定量人工判读结果的方法,在实际工作中判读结果直观简便。实验组2为患者EDTA抗凝血浆,由于EDTA抗凝血浆中Ca²⁺几乎被完全螯合,导致补体无法发挥作用,从而不能发生红细胞溶血现象^[8]。实验组3结果显示,用2-Me去除IgM抗-Le^a抗体的血清实验,加补体后出现弱阳性结果,可能是由于IgM抗-Le^a未被完全破坏,或者存在少量有补体致敏能力的IgG抗-Le^a抗体。实验组4是实验组1的对照试验,结果说明患者血清残留部分补体活性,在56℃完全灭活补体后,加入新鲜血清(加补体)的作用减弱,已经无法在体外造成溶血。所以,临床上输血前抽取血样应增加一管新鲜血清管。对于低效价,低亲和力的能激活补体的红细胞抗体可降低漏检率^[9]。

本次研究实验组5和6中结果显示对于抗-Le^a抗体的患者,用献血者血浆中和受血者体内的抗-Le^a抗体,治疗效果并不佳,实验组5中仅仅“1×”、“2×”两管显示微弱的中和效果(凝集强度略有减弱),说明Lea血型物质在随机人血浆中含量很少。这可能与人群中Le(a+b-)比例少有关,Le(a+b-)属于H非分泌型,基因型为“sese”,在东亚人群中非常罕见^[10]。在亚洲,表现型Le(a+b+)很常见,这是由一个弱的分泌型等位基因Se^a所致^[11]。所以中国人群随机血浆中,Lea物质较少,通过输注血浆中和患者抗-Le^a抗体的效果较差。因此对于抗-Le^a抗体患者,选取抗原分型一致Le(a-b-)的供者红细胞给患者交叉配血,是更安全有效的输血方案。

综上所述,溶血性抗-Le^a抗体在补体参与时可增强凝集和溶血反应,因此我们在临床输血工作中,遇到患者体内有溶血性抗-Le^a抗体时,应增加一管新鲜血清管,可适时采用相应的血清学试验来进行抗体鉴定,应重视该抗体会引起急性血管内溶血性输血反应。配合随机血浆输注抑制抗体活性的效果不佳,应选择抗原一致Le(a-b-)红细胞输注,来保障临床输血安全。体外补体致敏介导补体活化试验的设计可大大提高溶血性抗-Le^a抗体的检出率,从而降低抗-Le^a抗体的严重急性血管内溶血的发生。该实验也可对其他红细胞抗体介导补体活化能力的检测提供方法依据,为患者红细胞抗体的临床意义判断和血液制品的选择提供理论依据,保障输血安全。

参考文献

- 1 张雄民,向东,刘达庄. 罕见的Lewis血型系统抗体1例[J]. 中国输血杂志, 2002, 15(3): 196-197.
- 2 叶健忠,蔡于旭,梁延连,等. IgG抗-Le^a致严重溶血性输血反应1例及其家系调查[J]. 中国输血杂志, 2003, 16(4): 287-288.
- 3 杰夫·丹尼尔. 人类血型[M]. 朱自严译. 北京: 科学出版社, 2007.
- 4 Liu J, Wang D. ABO(H) and Lewis blood group sub-

- stances and disease treatment[J]. Transfus Med, 2022, 32(3): 187-192.
- 5 Fung MK. 美国血库协会技术手册[M]. 桂嵘译. 北京: 人民卫生出版社, 2013.
- 6 Cooling L. Blood groups in infection and host susceptibility[J]. Clin Microbiol Rev, 2015, 28(3): 801-870.
- 7 张勇萍, 安宁, 杨世明, 等. 76例Lewis血型抗体血清学特征及其对输血相容性检测的影响[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(3): 270-272.
- 8 王中英, 李健, 赵俸涌, 等. 红细胞抗体介导的补体活化的定量检测[J]. 中国输血杂志, 2022, 35(9): 982-985.
- 9 Anliker M, Schmidt CQ, Harder MJ, et al. Complement activation by human red blood cell antibodies: Hemolytic potential of antibodies and efficacy of complement inhibitors assessed by a sensitive flow cytometric assay[J]. Transfusion, 2018, 58(12): 2992-3002.
- 10 谭金哲, 鄢玲利, 李贵星. 37℃下具有反应活性的罕见抗-Lea+抗-Leb抗体1例及文献回顾[J]. 临床输血与检验, 2022, 24(3): 379-381, 408.
- 11 曾选, 王洁, 陆瑶, 等. Lewis系统抗体阳性产妇FUT2/FUT3基因的多态性分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2020, 40(11): 1697-1699, 1703.

(收稿日期 2024-03-27)

(本文编辑 葛芳君)

(上接第753页)

近期被屏蔽的全血献血者,特别是混合核酸阳性的,需加以限制归队,最终来提高归队成功率及再献血率。本次研究的不足之处在于样本量还不够大,部分数据如归队成功后流动至外地的献血者献血信息不详,对于统计结果分析产生了一定的影响,希望可以在全国范围内实现归队献血者详细信息互通,对于维护血液安全与献血者权益均至关重要。

参考文献

- 1 丁威,刘晋辉,朱立苇,等. 血液筛查反应性献血者的归队情况分析[J]. 浙江医学, 2020, 42(23): 2525-2528.
- 2 石洁,贾露,徐安琪,等. 南京地区反应性献血者归队情况分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验), 2019, 32(4): 620-621.

- 3 王莉娟,张天弼,霍宝锋,等. 献血者发生流失的影响因素及措施[J]. 中国医药科学, 2020, 10(22): 177.
- 4 潘登,刘娟. 酶联免疫检测与核酸检测对输血相关传染性疾病的检测价值比较[J]. 临床医学研究与实践, 2022, 7(19): 122-125.
- 5 杨丹蓉,李小红,秦伟斐,等. 重庆市献血者归队情况分析[J]. 重庆医学, 2021, 50(18): 3146-3149.
- 6 王妙玉,傅立强. 绍兴地区2017-2020年无偿献血者归队情况分析[J]. 全科医学临床与教育, 2022, 20(5): 448-450.
- 7 李乔,孙爱农,艳婷,等. 中山市724名ELISA单试剂反应性献血者归队情况分析[J]. 河南医学研究, 2021, 30(21): 3869-3872.

(收稿日期 2024-01-31)

(本文编辑 高金莲)