

## 专家论坛 · 临床输血与输血技术

## 免疫性因素对常见血型意外抗体产生的影响探讨

向 东，龚国琴，范亮峰，郑皆炜，刘 曦，金 沙

作者单位：200051 上海，上海市血液中心

作者简介：向 东，大学本科，学士学位，主任技师，教授，研究方向：免疫血液学研究。E-mail:xiangdong@sbc.org.cn



向 东，主任技师，教授，上海市血液中心血型参比实验室主任，上海交大医学院客座教授，上海健康医学院客座教授，中华医学会输血整合协会副主任委员，中国输血协会免疫血液学分会顾问，上海中西医结合学会副主任委员。《中国输血杂志》《临床输血与检验》等期刊编委。从事免疫血液学检测、教学及科研工作30余年。对输血免疫学疑难重症的诊断具有丰富的临床经验和娴熟的技能。对输血免疫学检测相关试剂、方法、分析有深入的研究，所负责的“免疫血液学学习班”在国内享有盛誉。

**[摘要]** 目的 探讨免疫性因素对常见血型意外抗体产生的影响。方法 回顾性分析2013年3月至2022年2月上海市血液中心血型参比实验室检出的明确记录患者输血史和妊娠史的意外抗体案例。排除直抗阳性、自身抗体、药物抗体、冷自身抗体及新生儿患者，排除混合抗体，最终共有1 920例入组。统计产生抗体患者的输血史和妊娠史，将其分为有输血史及妊娠史组（A组，331例）、仅有输血史组（B组，231例）、仅有妊娠史组（C组，1 068例）、无输血无妊娠史组（D组，290例）。其中有输血史者分为多次输血组326例和单次输血组236例。分析免疫性因素对常见血型意外抗体产生的影响。结果 B组与C组数据在分布趋势上存在明显的不一致性。B组抗E、抗Ec、抗Ce抗体检出率高于D组，抗M、抗Lea抗体检出率低于D组，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。C组抗D、抗E抗体检出率高于D组，抗M、抗Leb抗体检出率低于D组，差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。多次输血组抗Ce、抗Kidd、抗Ec抗体检出率高于单次输血组，抗DC、抗D抗体检出率低于单次输血组，差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同特异性意外抗体在A组与B组分布差异无统计学意义( $\chi^2 = 15.400, P = 0.350$ )，而与C组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 不同特异性抗体在输血患者、经产妇、无明显免疫史个体中的分布有显著差异。妊娠对血型意外抗体的产生也有显著影响，而对于意外抗体检测及输血安全而言，既往输血史的免疫学意义远大于妊娠史。研究血型意外抗体产生、分布及变化的规律，有助于安全输血，以及疾病的诊断和治疗。

**[关键词]** 意外抗体； 输血； 妊娠； 免疫性抗体

**[中图分类号]** R 457.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2022)08-0682-05

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2022.08.03

**An exploration on the effects of immune factors on the production of unexpected antibodies of common blood types** XIANG Dong, GONG Guo-qin, FAN Liang-feng, et al. Shanghai Blood Center, Shanghai 200051, China

**[Abstract]** **Objective** To explore the effects of immune factors on the production of unexpected antibodies of common blood types. **Methods** The unexpected antibody cases with clearly recorded transfusion and pregnancy history detected in the Blood Group Reference Laboratory of Shanghai Blood Center from March 2013 to February 2022 were retrospectively analyzed. The direct antiglobulin test(DAT) positive, autoantibodies, drug antibodies, cold autoantibodies and neonatal patients, and mixed antibodies were excluded. A total of 1 920 cases were finally enrolled. The blood transfusion history and pregnancy history of the patients who produced antibodies were counted, and they were divided into blood transfusion and pregnancy history group(group A, 331 cases), blood transfusion history group(group B, 231 cases), pregnancy history group(group C, 1 068 cases), non-blood transfusion and non-pregnancy history group(group D, 290 cases). The patients with blood transfusion history were divided into multiple blood transfusion group(326 cases) and

single blood transfusion group (236 cases). The effects of immune factors on the production of unexpected antibodies of common blood types were analyzed. **Results** There was no obvious consistency in the distribution trend between the group B and the group C. The detection rates of anti-E, anti-Ec and anti-Ce antibodies in the group B were higher than those in the group D, and the detection rates of anti-M and anti-Lea in the group B were lower than those in the group D, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). The detection rates of anti-D and anti-E in the group C were higher than those in the group D, but the detection rates of anti-M and anti-Leb in the group C were lower than those in the group D, and the differences were significantly different ( $P < 0.05$ ). The detection rates of anti-Ce, anti-Kidd and anti-Ec in the multiple blood transfusion group were higher than those in the single blood transfusion group. The detection rates of anti-DC and anti-D in the multiple blood transfusion group were lower than those in the single blood transfusion group, and the differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ). There were no statistically significant differences between the group A and the group B in the distributions of different specific unexpected antibodies ( $\chi^2 = 15.400$ ,  $P = 0.350$ ), but there was a statistically significant difference between the group A and the group C ( $P < 0.05$ ).

**Conclusion** There are significant differences in the distributions of different specific antibodies in blood transfusion patients, multiparae and individuals without obvious immune history. Pregnancy also has a significant impact on the production of unexpected antibodies of blood types, and for the detection of unexpected antibodies and the safety of blood transfusion, the significance of previous blood transfusion history is much greater than that of pregnancy history. The study on the laws of production, distribution and variation of unexpected antibodies of blood types will bring valuable help to the safety of blood transfusion and even the diagnosis and treatment of diseases.

[Key words] Unexpected antibodies; Blood transfusion; Pregnancy; Immune antibodies

血型意外抗体(unexpected antibodies of blood types)是指正常ABO血型中抗A、抗B之外的红细胞血型抗体。ABO血型系统中抗体的产生遵循“兰德斯坦纳法则”，即缺乏A抗原必然产生抗A抗体，缺乏B抗原必然产生抗B抗体。然而，绝大多数血型抗体并不遵循这一法则，大部分缺乏某种血型抗原的个体并不产生相应抗体，需要通过明显的免疫刺激而产生，被称为“免疫抗体”，这些免疫刺激主要包括输血和妊娠。少部分血型抗体似乎无需明显的免疫刺激即可出现，被称为“天然抗体”<sup>[1]</sup>。输血与血型抗体的产生相关<sup>[2]</sup>，据报道，每输注10单位红细胞，大约有0.4%的可能性使受血者产生意外抗体<sup>[3]</sup>。妊娠也被认为是血型抗体产生的重要原因之一，约1%的Rh阳性孕妇体内检出意外抗体<sup>[4-6]</sup>，较献血者人群检出率高约10倍<sup>[7]</sup>。然而，“免疫抗体”与“天然抗体”并非截然分开的两种抗体。在临床检测中，常发现某些“免疫抗体”在没有明显免疫刺激的情况下出现<sup>[8]</sup>，也发现妊娠中一些“天然抗体”的检出率升高<sup>[9]</sup>。作为主要的免疫刺激因素，输血和妊娠产生的红细胞抗体特异性分布也不尽相同<sup>[10-12]</sup>。为研究常见血型抗体的产生规律，探讨输血、妊娠对不同抗体产生的影响差异，本研究对上海市血液中心检出意外抗体的样本资料进行了回顾性分析。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择2013年3月至2022年2月于我中心进行检测的样本，均由上海市及上海周边城市

医院送检。纳入产生同种意外抗体者。排除直抗阳性、自身抗体、药物抗体（主要为抗CD38）、冷自身抗体（主要为抗I）、新生儿、无明确患者输血和妊娠史、抗体检出的例数≤10例及混合抗体（Kidd抗体与抗Wra抗体多伴随其他抗体存在，未排除混合抗体）者。共1920例符合条件入组，包含15种不同抗体特异性。根据输血史和妊娠史，按抗体特异性将其分为4组：A组331例，有输血史及妊娠史；B组231例，仅有输血史；C组1068例，仅有妊娠史；D组290例，无输血、无妊娠史。其中有输血史者分为多次输血组326例和单次输血组236例。

**1.2 试剂与仪器** 实验中直抗均使用多特异性和单特异性抗IgG、单特异性抗C3试剂同时检测，直抗试剂均购自上海血液生物公司。定型试剂、抗人球蛋白试剂、酸放散试剂均购自上海血液生物公司。毛细管离心机（BASO 2403）、微柱凝集卡（伯乐，奥森多及其配套设备）、试管离心机（日本久保田，KA2200型）、抗体鉴定细胞分别购自Immucor公司、Sanquin公司、Reagent公司和上海血液生物公司产品。

**1.3 抗体检测方法** 所有患者血样的意外抗体鉴定，除应用试管盐水法之外，可能单独或联合使用下列几种非盐水介质方法，包括试管抗人球蛋白法、手工微柱凝集法、聚凝胺法（上海血液生物聚凝胺试剂）等。在对抗体反应较弱的样本检测中，聚乙二醇（polyethylene glycol, PEG）增强方法被普遍应用于试管抗人球蛋白试验及微柱凝集试验。在确定患者存

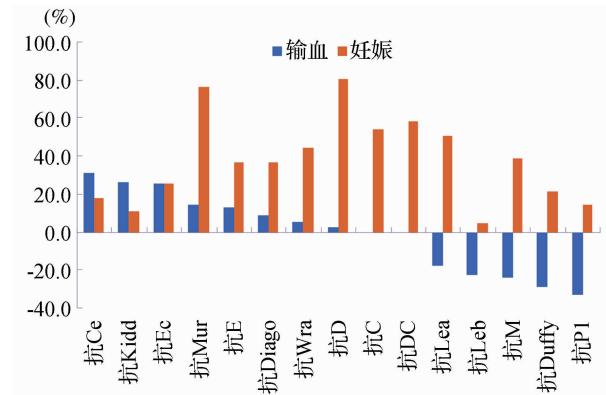
在特异性意外抗体后,均检测患者自身红细胞的相应抗原,相应抗原为阴性方可确认抗体特异性。

**1.4 统计学方法** 统计不同特异性抗体例数,应用 Microsoft 365 Excel 中“CHISQ. TEST”进行 $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

表 1 1 920 例血型意外抗体特异性及免疫史情况(*n*)

组别	抗 C	抗 Ce	抗 E	抗 Ec	抗 D	抗 DC	抗 Diago	抗 Duffy	抗 Kidd	抗 Lea	抗 Leb	抗 M	抗 Mur	抗 P1	抗 Wra	合计
A 组	3	26	160	52	15	10	6	3	9	9	2	27	2	1	6	331
B 组	1	24	109	47	7	1	1	0	6	5	3	21	3	1	2	231
C 组	8	15	239	48	121	19	4	7	3	124	9	435	16	11	9	1068
D 组	1	3	39	8	3	1	0	4	1	37	8	176	0	8	1	290
合计	13	68	547	155	146	31	11	14	19	175	22	659	21	21	18	1920

**2.2 不同特异性抗体与输血、妊娠的关系** 输血组中各抗体占比高低大致区分了常见的“免疫抗体”和“非免疫抗体”;而妊娠组数据呈现不同的分布模式。可见输血与妊娠对不同抗体的影响存在明显差异。见图 1。



注:纵坐标为减去 D 组数据后 B 组、C 组在特定抗体中占比

图 1 不同特异性抗体与输血、妊娠关系图

**2.3 不同组间抗体产生频率比较** B 组抗 E、抗 Ec、抗 Ce 抗体检出率高于 D 组,抗 M、抗 Lea 抗体检出率低于 D 组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。C 组抗 D、抗 E 抗体检出率高于 D 组,抗 M、抗 Leb 抗体检出率低于 D 组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2,3。

表 2 D 组与 B 组检出抗体特异性及数量的比较[n(%)]

抗体	D 组( <i>n</i> =290)	B 组( <i>n</i> =231)	$\chi^2$	P
抗 M	176(60.69)	21(9.09)	145.584	0.000
抗 E	39(13.45)	109(47.19)	71.964	0.000
抗 Ec	8(2.76)	47(20.35)	42.123	0.000
抗 Ce	3(1.03)	24(10.39)	22.901	0.000
抗 Lea	37(12.76)	5(2.16)	19.471	0.000
抗 Kidd	1(0.34)	6(2.60)	3.369	0.066

## 2 结果

**2.1 1 920 例血型意外抗体分布情况** 入组 1 920 例抗体,其中 Kidd 系统抗体 19 例中有 8 例为混合抗体,抗 Wra 18 例中有 9 例为混合抗体,其余均为单独抗体。1 920 例血型意外抗体特异性及免疫史情况见表 1。

续表 2

抗体	D 组( <i>n</i> =290)	B 组( <i>n</i> =231)	$\chi^2$	P
抗 P1	8(2.76)	1(0.43)	2.841	0.092
抗 Mur	0(0.00)	3(1.30)	1.859	0.173
抗 Duffy	4(1.38)	0(0.00)	1.656	0.199
抗 D	3(1.03)	7(3.03)	1.764	0.184
抗 Leb	8(2.76)	3(1.30)	0.714	0.398
抗 Diago	0(0.00)	1(0.43)	0.013	0.909
抗 Wra	1(0.34)	2(0.87)	0.039	0.843
抗 C	1(0.34)	1(0.43)	0.304	0.581
抗 DC	1(0.34)	1(0.43)	0.304	0.581

表 3 D 组与 C 组检出抗体特异性及数量的比较[n(%)]

抗体	D 组( <i>n</i> =290)	C 组( <i>n</i> =1 068)	$\chi^2$	P
抗 M	176(60.69)	435(40.73)	36.711	0.000
抗 D	3(1.03)	121(11.33)	29.134	0.000
抗 E	39(13.45)	239(22.38)	11.171	0.001
抗 Leb	8(2.76)	9(0.84)	5.311	0.021
抗 P1	8(2.76)	11(1.03)	3.767	0.052
抗 Mur	0(0.00)	16(1.50)	3.204	0.074
抗 DC	1(0.34)	19(1.78)	2.320	0.128
抗 Ec	8(2.76)	48(4.49)	1.738	0.187
抗 Duffy	4(1.38)	7(0.66)	0.723	0.395
抗 Diago	0(0.00)	4(0.37)	0.187	0.665
抗 Wra	1(0.34)	9(0.84)	0.242	0.623
抗 C	1(0.34)	8(0.75)	0.119	0.731
抗 Lea	37(12.76)	124(11.61)	0.288	0.592
抗 Ce	3(1.03)	15(1.40)	0.040	0.842
抗 Kidd	1(0.34)	3(0.28)	0.187	0.665

**2.4** 输血次数对不同特异性抗体产生的影响 多次输血组抗 Ce、抗 Kidd、抗 Ec 抗体检出率高于单次输血组,抗 DC、抗 D 抗体检出率低于单次输血组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 4 输血次数对不同特异性抗体产生的影响 [ $n(%)$ ]

抗体	单次输血组 (n=236)	多次输血组 (n=326)	$\chi^2$	P
抗 DC	9(3.81)	2(0.61)	5.733	0.017
抗 Ce	13(5.51)	37(11.35)	5.763	0.016
抗 Kidd	2(0.85)	13(3.99)	5.197	0.023
抗 Ec	31(13.14)	68(20.86)	5.627	0.018
抗 D	14(5.93)	8(2.45)	4.403	0.036
抗 Wra	1(0.42)	7(2.15)	1.780	0.180
抗 E	124(52.54)	145(44.48)	3.567	0.059
抗 Lea	8(3.39)	6(1.84)	1.353	0.245
抗 Duffy	2(0.85)	1(0.31)	0.079	0.778
抗 Leb	3(1.27)	2(0.61)	0.133	0.716
抗 C	2(0.85)	2(0.61)	0.033	0.855
抗 M	21(8.90)	27(8.28)	0.067	0.797
抗 P1	1(0.42)	1(0.31)	0.238	0.626
抗 Mur	2(0.85)	3(0.92)	0.133	0.716
抗 Diago	3(1.27)	4(1.23)	0.115	0.735

**2.5** 输血、妊娠因素对意外抗体的影响 不同特异性意外抗体在 A 组与 B 组分布差异无统计学意义( $\chi^2 = 15.400, P = 0.350$ ),与 C 组比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 287.000, P = 0.000$ )。D 组意外抗体特异性分布与 B 组和 C 组比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 241.000, P = 0.000$ ;  $\chi^2 = 81.000, P = 0.000$ )。

### 3 讨论

**3.1** 本回顾性研究中涉及的意外抗体资料,均来自有明确输血史和妊娠史的患者,就抗体特异性分布而言,结果与国内相关报道基本一致<sup>[13-15]</sup>;与国外相关报道比较,除了在 Kell 系统和 Duffy 系统中,因人群血型分布不同而存在差异外,其他血型系统抗体检出率也基本一致<sup>[16]</sup>。通过对本系列抗体的研究,发现输血和妊娠这两种主要的血型抗原免疫过程,与抗体检出的相关性并不一致。

**3.2** 本研究 B 组与 D 组数据发现,抗 E、抗 Ec、抗 Ce 抗体与输血存在显著关联;抗 M、抗 Lea 更倾向于在非输血患者中产生,此结果与这些抗体的特点相符。抗 D 与抗 DC 的产生与输血相关性较小。自 2000 年实施《临床输血技术规范》以来,基本做到了 RhD 血型的同型输注,临床输血造成 Rh 阴性患者产生抗 D 的机会极小。然而,通常被认为是免疫抗体的 Duffy、

Diago 系统抗体,并未表现出与输血相关。这可能是由于 Duffy 系统和 Diago 抗体存在一定数量的“天然抗体”所致<sup>[17-18]</sup>。

**3.3** 本研究通过比较 C 组与 D 组数据,揭示了抗 D 与妊娠具有显著关联性,同时抗 E 是本系列数据中唯一在 B 组和 C 组中检出率均显著高于 D 组的抗体;而抗 M、抗 Leb 倾向于在无输血、无妊娠史的患者中产生。结合 B 组数据,抗 M、Lewis 系统抗体符合所谓“天然抗体”的特点,其产生不依赖于输血、妊娠等明显的血液免疫过程。虽然本研究中“天然抗体”在 D 组中的检出率显著高于 B 组和 C 组,然而不能认为输血、妊娠是这些抗体产生的抑制条件。合理的解释是,由于 B 组和 C 组中免疫性抗体的存在,使这些“天然抗体”在 B 组和 C 组中的比例相对降低。

**3.4** 本研究在比对多次输血和单次输血的差异时发现,抗 E 与多次输血的关联性较弱,而抗 Ec、抗 Ce 与多次输血关联性较强。造成这一现象有两种可能,其一是存在部分“天然”抗 E 抗体<sup>[19]</sup>,降低了抗 E 与输血的关联性;另一种可能是抗 Ec 和抗 Ce 相对于抗 E 而言,需要更多次输血才能产生。本研究结果显示,抗 D 与抗 DC 均与单次输血关联性更强,推测其原因仍然与目前国内输血策略相关。Rh 阴性患者仅输注 Rh 阴性血液,因此输血不成为形成抗 D 的条件,相反由于 Rh 阴性血液的相对缺少,多次输血的 Rh 阴性患者相对较少。

**3.5** 本研究结果显示,不同特异性意外抗体在 A 组与 B 组分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),而与 C 组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明输血对意外抗体产生及分布的影响远大于妊娠。据此,对于意外抗体检测或输血安全而言,既往输血史的意义远大于妊娠史。同时,D 组与 C 组的差异性也显示了妊娠对血型意外抗体的产生也有一定影响。

**3.6** 本研究数据中,部分特异性抗体数量较少,一定程度上影响了统计结果的可靠性。另外,部分有临床意义的抗体,如抗 S、抗 c、抗 Tja 等,因例数较少而未能纳入分析。在 1 399 例有妊娠史的患者中,共有 203 例为初次妊娠的孕妇,且妊娠  $< 30$  周者约 130 例。这部分患者并未经历一次完整的妊娠免疫,可能对妊娠免疫的计算有一定影响。

影响血型意外抗体产生的因素很多,例如 HLA 分型、疾病、治疗、年龄<sup>[20]</sup>等。本研究仅就输血和妊娠对抗体产生的影响进行了分析,在提倡精准医疗和循证医学的背景下,研究血型意外抗体产生、分布及变化的规律,有助于安全输血甚至疾病的诊断和治疗。

## 参考文献

- [1] Aygun B, Padmanabhan S, Paley C, et al. Clinical significance of RBC alloantibodies and autoantibodies in sickle cell patients who received transfusions[J]. Transfusion, 2002, 42(1):37–43.
- [2] 李静,陈要朋,尹晓林.非输血依赖型地中海贫血输血策略探讨[J].中国临床新医学,2020,13(10):969–972.
- [3] Nadarajan VS. The prevalence, immunogenicity, and evanescence of alloantibodies to MUT and Mur antigens of GP. Mur red blood cells in a Southeast Asian patient cohort[J]. Transfusion, 2018, 58(5): 1189–1198.
- [4] Webb J, Delaney M. Red blood cell alloimmunization in the pregnant patient[J]. Transfus Med Rev, 2018, 32(4):213–219.
- [5] Moinuddin I, Fletcher C, Millward P. Prevalence and specificity of clinically significant red cell alloantibodies in pregnant women—a study from a tertiary care hospital in Southeast Michigan[J]. J Blood Med, 2019, 10:283–289.
- [6] Shahverdi E, Moghaddam M, Gorzin F. Maternal red blood cell alloantibodies identified in blood samples obtained from Iranian pregnant women: the first population study in Iran[J]. Transfusion, 2017, 57(1):97–101.
- [7] de Castilho LM, Pellegrino J Jr, Bechelli AP, et al. Evaluation of recent techniques for detection of red blood cell antibodies in sera of reference samples, patients, pregnant women, and blood donors[J]. J Clin Lab Anal, 1996, 10(5):250–256.
- [8] Hussain SS, Ebbs AM, Curtin NJ, et al. Delayed haemolytic transfusion reaction due to anti-Jkb in a patient with non-Hodgkin's lymphoma—transient nature of anti-Jkb and the importance of early serological diagnosis[J]. Transfus Med, 2007, 17(3):197–199.
- [9] Perkins RP. The significance of the anti-Lewis antibodies in pregnancy [J]. Am J Obstet Gynecol, 1970, 107(1):28–32.
- [10] Nordvall M, Dziegieł M, Hegaard HK, et al. Red blood cell antibodies in pregnancy and their clinical consequences: synergistic effects of multiple specificities[J]. Transfusion, 2009, 49(10):2070–2075.
- [11] Lee CK, Ma ES, Tang M, et al. Prevalence and specificity of clinically significant red cell alloantibodies in Chinese women during pregnancy—a review of cases from 1997 to 2001[J]. Transfus Med, 2003, 13(4):227–231.
- [12] Zalpuri S, Zwaginga JJ, le Cessie S, et al. Red-blood-cell alloimmunization and number of red-blood-cell transfusions[J]. Vox Sang, 2012, 102(2):144–149.
- [13] 张秋会,胡兴斌,安群星,等.不同临床科室患者红细胞血型不规则抗体检出情况与分析[J].中国输血杂志,2015,28(12):1485–1487.
- [14] 王钰箐,蔡晓红,龚淞颂,等.46346名患者不规则抗体筛查结果及分析[J].中国输血杂志,2015,28(8):1004–1006.
- [15] 王莉,吕先萍.住院患者91680例红细胞不规则抗体分析[J].中国实用医刊,2018,45(12):28–30.
- [16] van Gammeren AJ, van den Bos AG, Som N, et al. A national transfusion register of irregular antibodies and cross(X)-match problems: TRIX, a 10-year analysis[J]. Transfusion, 2019, 59(8):2559–2566.
- [17] 刘曦,金沙,范亮峰,等.天然抗-Fyb伴抗-Mur 1例[J].中国输血杂志,2012,25(9):891–892.
- [18] Algara M, Barbolla L, Contreras M. Naturally occurring anti-D, anti-K, anti-Fy(a), and anti-Le(ab)[J]. Vox Sang, 1991, 61(2):141.
- [19] Klein HG, Anstee DJ. Mollison's blood transfusion in clinical medicine 12nd ed[M]. Hoboken, New Jersey: Blackwell Scientific, 2014: 72.
- [20] Tamai Y, Ohto H, Yasuda H, et al. Allo-anti-M: detection peaks around 2 years of age, but may be attenuated by red blood cell transfusion[J]. Transfusion, 2021, 61(9):2718–2726.

[收稿日期 2022-07-30] [本文编辑 吕文娟 余军]

## 本文引用格式

向东,龚国琴,范亮峰,等.免疫性因素对常见血型意外抗体产生的影响探讨[J].中国临床新医学,2022,15(8):682–686.