

• 论 著 •

某地区无偿献血者中性粒细胞特异性抗体筛查分析*

刘 铮, 张伯伟, 赵 磊, 康轶青, 马 茹, 杜 鹃, 杨贺才, 程四国[△]

(河南省红十字血液中心, 郑州 450052)

摘要:目的 探讨河南地区无偿献血者中性粒细胞特异性(HNA)抗体的分布和特异性,分析 HNA 抗体引起的免疫性输血不良反应。方法 随机收集女性标本 156 例,男性标本 80 例,采用 LABScreen Multi 试剂盒对标本 HNA 抗体进行检测。结果 236 例无偿献血者中,女性 HNA 抗体检出阳性率为 5.77%(9/156),男性为 5.00%(4/80)。其中 HNA 1A 者 7 例, HNA 4A 者 4 例,同时检出 HNA 1A 和 HNA 4A、HNA 1A 和 HNA 1C 各 1 例。结论 HNA 抗体分布无性别差异,研究 HNA 抗体的分布和特异性,可为指导临床输血安全和相关政策的制定提供有力的理论基础。

关键词:中性粒细胞特异性抗体; 免疫性输血不良反应; 输血安全

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.20.008

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)20-2823-02

Identification of human neutrophil antibodies among volunteer blood donors in one district*

LIU Zheng, ZHANG Bowei, ZHAO Lei, KANG Yiqing, MA Ru, DU Juan, YANG Hecai, HU Yingchun, CHENG Siguo[△]

(Henan Red Cross Blood Center, Zhengzhou, Henan 450012, China)

Abstract: Objective To elucidate the distribution of human neutrophil (HNA) antibodies among volunteer blood donors in Henan and estimate the risk rate of immune-mediated transfusion related adverse reaction caused by HNA antibodies. **Methods** 156 females and 80 males were collected randomly from volunteer blood donors in Henan. All the samples' HNA antibodies were detected using LABScreen Multi kit. **Results** The data showed that among the 236 volunteer blood donors, the positive rate of HNA antibodies was 5.77%(9/156) in females, while the rates were 5.00%(4/80) for males. Among the positive donors, there were 7 anti-HNA 1A, 4 anti-HNA 4A, 1 anti-HNA 1A/HNA 4A and anti-HNA 1A/HNA 1C. **Conclusion** The frequency of HNA antibodies in females is same as the males. Our study is to elucidate the distribution of human neutrophil antibodies among volunteer blood donors in Henan and estimate the risk rate of immune-mediated transfusion related adverse reaction caused by HNA antibodies, therefore it could provide theoretical basis for clinical transfusion safety.

Key words: HNA; immune-mediated transfusion related adverse reaction; transfusion safety

输血是临床不可缺少的治疗手段,但可引起多种不良反应和并发症,因此输血安全是临床输血工作者的研究重点^[1-2]。目前输血安全最重要的问题是非感染性输血并发症,其中输血相关急性肺损伤(TRALI)已成为输血相关致死的首要原因^[3]。TRALI的发病机制至今仍不十分清楚,普遍认为的理论是“2次打击”学说^[4-6]:第1次打击是由于患者自身的各种因素,激活中性粒细胞的NADPH氧化酶,从而引起中性粒细胞活化、聚集并黏附于肺毛细血管内皮细胞上^[7];第2次打击就是血液输注,由于患者输入含人类白细胞抗原抗体(HLA-I/II)或人类中性粒细胞特异性(HNA)抗体的血液,与患者体内相应的抗原发生抗原抗体反应,从而引起中性粒细胞活化,血管内皮损伤,肺毛细血管通透性增加,导致肺水肿等急性肺损伤症状^[8]。因此,TRALI与HLA-I/II或HNA抗体密切相关^[9]。有研究报道,不同抗体造成的TRALI严重程度不一致,HNA 3A抗体通常引起严重的TRALI^[10]。我国目前对无偿献血者未做出相关规定,也缺乏HLA抗体检测的方法和相关的研究数据。现建立无偿献血者血液HNA抗体检测平台,了解河南地区HNA抗体的分布和特异性,探讨HNA抗体导致的免疫性输血不良反应。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取河南省红十字血液中心2015年无偿献血者236例,女156例,年龄19~55岁,男80例,年龄

18~55岁。抽取所有研究对象的外周血3 mL,EDTA-K₂抗凝,离心分离血浆与血细胞,于-20℃保存。

1.2 仪器与试剂 配套仪器Luminex 200购自美国Thermo公司。LABScreen Multi(批号#LSMUTR)检测试剂盒进行HNA抗体筛查。

1.3 HNA抗体检测 酶标板每孔中依次加入2 μL微珠,14 μL 1×PBS,7 μL血浆样本,混匀,室温避光孵育30 min。每孔加入180 μL 1×Labscreen洗液,封口膜封严,混匀器混匀,3 500 r/min离心5 min,离心后检查微球是否沉入孔底,快速将洗液甩入废物箱中,重复2次。每孔加入50 μL 2抗混匀,室温避光孵育30 min。孵育后,杂交板直接3 500 r/min离心5 min,然后将2抗甩至废物箱中,清洗3次。完成后,每孔加入50 μL PBS,使用混匀器混匀标本,将标本转移至读板中,上机读取结果。

1.4 统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析,计数资料以例数或百分率表示,组间比较使用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 男女性无偿献血者HNA抗体检测结果比较 女性HNA抗体检出阳性率为5.77%(9/156),男性为5.00%(4/80)。男女性HLA抗体阳性率结果比较,差异无统计学意义($\chi^2=0.000, P=1.000$)。见表1。

* 基金项目:河南省2013年科技发展计划项目(134300510068)。

作者简介:刘铮,女,主管技师,主要从事输血的分子生物学研究。△ 通讯作者,E-mail:chensiguo999@126.com。

2.2 男女性无偿献血者回访结果比较 对 HNA 抗体阳性献血者进行电话回访,询问女性孕育史和输血史,9 例 HNA 抗体阳性女性中,仅 1 例孕产史为 0,均无输血史。询问男性输血史,4 例 HNA 抗体阳性男性均无输血史。

表 1 男女性无偿献血者 HNA 抗体检测结果比较[n(%)]

类别	HNA 抗体阳性	HNA 抗体阴性	合计
女性	9(5.77)	147(94.23)	156(100)
男性	4(5.00)	76(95.00)	80(100)
合计	13(5.51)	223(94.49)	236(100)

2.3 HNA 抗体阳性标本 HNA 抗体的特异性结果比较 HNA 1A 有 7 例, HNA 4A 有 4 例,同时检出 HNA 1A 和 HNA 4A、HNA 1A 和 HNA 1C 各 1 例。见表 2。

表 2 男女性无偿献血者 HNA 抗体特异性结果比较[n(%)]

抗体类型	女性	男性	合计
HNA 1A	7(53.85)	0	7(53.85)
HNA 4A	1(7.69)	3(23.08)	4(30.77)
HNA 1A/HNA 4A	0	1(7.69)	1(7.69)
HNA 1A/HNA 1C	1(7.69)	0	1(7.69)
合计	9(69.23)	4(30.77)	13(100.00)

3 讨 论

TRALI 是输血相关病死的首要原因,65%~89%的 TRALI 患者的成分血中均发现抗白细胞抗体^[11]。这些抗体的同源抗原是表达于受血者白细胞的 HLA-I、II 类和 HNA 抗原^[12]。其中 HNA 抗原及其抗体在输血、骨髓移植和新生儿中性粒细胞减少等方面具有重要的临床意义,特别是中性粒细胞抗体在非溶血性输血反应中具有重要的临床价值,抗-HNA 不仅可引起发热性非溶血性输血反应,还可造成 TRALI^[13]。本研究结果表明,156 例女性检出 HNA 抗体 9 例,阳性率为 5.77%;80 例男性检出 HNA 抗体 4 例,阳性率为 5.00%,男女性 HNA 抗体阳性率比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。对 HNA 抗体阳性者进行电话回访显示,询问女性孕育史和输血史,9 例 HNA 抗体阳性者仅 1 例无孕产史,均无输血史;询问男性输血史,4 例 HNA 抗体阳性者均无输血史。提示孕产史与 HNA 抗体的产生有一定的相关性,但是否有输血史则关系不大,因为每次妊娠过程就是 1 次免疫刺激,孕妇会产生 HNA 抗体。

本研究表明,9 例 HNA 抗体阳性的女性,有 7 例为 HNA 1A 抗体阳性,1 例为 HNA 4A 抗体阳性,1 例为 HNA 1A 和 HNA 1C 抗体阳性;4 例 HNA 抗体阳性的男性,有 3 例为 HNA 4A 抗体阳性,1 例为 HNA 1A 和 HNA 4A 抗体阳性。有研究报道,涉及 TRALI 的 HNA 抗体有 HNA 1A、HNA 1B、HNA 2A、HNA 3A 等抗体,其中以 HNA 3A 抗体最为常见^[14]。本研究女性检出的 HNA 抗体中 HNA 1A 比例较大,可能存在一定的 TRALI 风险,而男性检出的 HNA 抗体多为 HNA 4A,无相应的危险报道,虽然 HNA 抗体的检出率与性别无关,但由于女性抗体更有可能导致 TRALI 发生,因此 TRALI 的发生率与性别可能有一定的相关性。欧美等发达国家近年来实施输注非女性血浆策略后 TRALI 的发生率降低,也间接支持本研究。

中 HNA 抗体的筛查更是甚少,这是因为与 HNA 的认识不足及检测手段欠缺有关,随着对 HNA 分子结构及生物特性的深入了解及检测方法的提高,HNA 将会受到重视。本研究通过对河南地区无偿献血人群的 HNA 抗体分布进行筛查,了解该地区 HNA 抗体的分布和特异性,分析 HNA 抗体引起的免疫性输血不良反应,为指导临床用血安全和相关政策的制定提供有力的理论基础。

参考文献

- [1] 刘铮,张伯伟,张丽,等. 临床非溶血性发热性输血反应回顾性分析[J]. 中国实用医药,2015,10(35):285-286.
- [2] 林静霞,任俊,肖帆,等. 输血不良反应的临床特点及影响因素分析[J]. 中国输血杂志,2015,28(3):291-294.
- [3] 李锐,黄宇光. 输血相关急性肺损伤的免疫机制[J]. 中国临床药理学与治疗学,2013,18(5):575-579.
- [4] 汪娟,李维,尹崇珍,等. 输血相关性急性肺损伤的病例报告及临床研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(12):1768-1770.
- [5] 王同显,马保凤. 固有免疫在输血相关急性肺损伤发病机制中的作用[J]. 中国输血杂志,2014,27(5):546-549.
- [6] Silliman CC. The two-event model of transfusion-related acute lung injury[J]. Crit Care Med,2006,34(Suppl 5):S124-S131.
- [7] Lin Y,Saw CL,Hannach B,et al. Transfusion-related acute lung injury prevention measures and their impact at Canadian Blood Services[J]. Transfusion,2012,52(3):567-574.
- [8] Sachs UJ,Wasel W,Bayat B,et al. Mechanism of transfusion-related acute lung injury induced by HLA class II antibodies[J]. Blood,2011,117(2):669-677.
- [9] 陈大伟,夏文杰,叶欣,等. 无偿献血人群中已育女性 HLA 抗体筛查及特异性分析[J]. 中国输血杂志,2014,27(3):251-253.
- [10] 陈青,肖建宇,黄成垠,等. 介导重度 TRALI 的人类中性粒细胞抗原 3(HNA-3)在不同种族人群中基因频率分布的研究[J]. 中国输血杂志,2013,26(9):856-858.
- [11] Funk MB,Guenay S,Lohmann A,et al. Benefit of transfusion-related acute lung injury risk-minimization measures—German haemovigilance data (2006—2010)[J]. Vox Sang,2012,102(4):317-323.
- [12] Chapman CE,Stainsby D,Jones H,et al. Ten years of hemovigilance reports of transfusion-related acute lung injury in the United Kingdom and the impact of preferential use of male donor plasma[J]. Transfusion,2009,49(3):440-452.
- [13] Müller MC,Juffermans NP. Transfusion-related acute lung injury;a preventable syndrome? [J]. Expert Rev Hematol,2012,5(1):97-106.
- [14] Reil A,Keller-Stanislawski B,Günay S,et al. Specificities of leucocyte alloantibodies in transfusion-related acute lung injury and results of leucocyte antibody screening of blood donors[J]. Vox Sanguinis,2008,95(4):313-317.