

• 临床研究 •

RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿与新生儿溶血病的相关性分析*

何子毅¹, 刘赴平¹, 胡应明¹, 张建强²

(1. 广东省东莞市中心血站 523930; 2. 广东省东莞市道滘医院检验科 523930)

摘要:目的 探讨 RhD 阴性孕妇产前免疫性抗 D 抗体的检出率与产后新生儿溶血病(HDN)发病率的相关性。方法 收集 2007 年 1 月至 2010 年 12 月 137 例 RhD 阴性孕妇产前血样及 40 例产后血样, 分析产前抗 D 抗体的检出率、产后 HDN 发病率及其与母儿 ABO 血型配合性的关系。结果 16 例(12.60%)RhD 阴性孕妇多次妊娠者检测到抗 D 抗体, 10 例首次妊娠者均未检出; 产前血清抗 D 抗体的检出率低于产后($P < 0.05$); RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿且母儿 ABO 血型不配合时 HDN 的发病率高于母儿 ABO 血型配合者($P < 0.05$), 属 ABO 血型系统者 HDN 的发病率高于属 Rh 血型系统者($P < 0.05$); 抗 D 抗体的检出率与母儿 ABO 血型配合性无相关性($P > 0.05$)。结论 产前 RhD 阴性孕妇抗 D 抗体的检出率与产后发生 HDN 的相关性尚不明确; ABO 血型不配合对 RhD 阴性孕妇发生 RhD-HDN 有保护作用, 但对产生抗 D 抗体的检出率无影响。

关键词: 抗 D 抗体; Rh 血型系统; ABO 血型系统; 新生儿溶血病

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.08.008

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)08-0748-03

Correlation analysis of hemolytic disease of newborn and RhD negative pregnant women carrying RhD positive fetus*

He Ziyi¹, Liu Fuping¹, Hu Yingming¹, Zhang Jianqiang²

(1. Dongguan Central Blood Station, Dongguan, Guangdong 523930, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Daojiao Hospital of Dongguan, Dongguan, Guangdong 523930, China)

Abstract: Objective To explore the correlation of prenatal detection rate of immune anti-D antibody of pregnant women with RhD negative blood type and the incidence rate of postpartum hemolytic disease of newborn(HDN). **Methods** 137 prenatal blood samples of pregnant women with RhD negative blood type and 40 postpartum blood samples were collected from January 2007 to December 2010. Their prenatal detection rate of anti-D antibody, incidence rate of postpartum HDN and their relationship with maternal-fetal ABO-blood group compatibility were analyzed. **Results** Anti-D antibody was detected in 16(12.60%) pregnant women with RhD negative blood type and history of several pregnancies, and was not detected in 10 women in their first pregnancy. The prenatal detection rate of serum anti-D antibody was lower than that after delivery($P < 0.05$). The incidence rate of HDN for RhD negative pregnant women carrying RhD positive fetus with maternal-fetal ABO-blood group incompatibility was higher than those with maternal-fetal ABO-blood group compatibility($P < 0.05$), and the incidence rate of HDN for those belong to ABO-blood group system was higher than those belong to Rh-blood group system($P < 0.05$). No correlation was found between the detection rate of anti-D antibody and the maternal-fetal ABO-blood group compatibility($P > 0.05$). **Conclusion** The correlation of prenatal detection rate of anti-D antibody of RhD negative pregnant women and the incidence rate of postpartum HDN is not clear. ABO-blood group incompatibility has a protective effect on RhD negative pregnant women from RhD-HDN, but no effect on detection rate of anti-D antibodies.

Key words: anti-D antibodies; Rh blood-group system; ABO blood-group system; hemolytic disease of newborn

Rh 血型系统是人类较为复杂和重要的血型系统, Rh 抗原主要有 5 种, 即 D, C, c, E 和 e 抗原, 其中, D 抗原的免疫原性最强, 是引起新生儿溶血病(hemolytic disease of newborn, HDN)的主要原因之一^[1]。因 Rh 血型不合引起 HDN 的发病率为 1.58%, 其中因妊娠免疫性抗 D 抗体引起者占 0.88%, 近期有报道因免疫性抗 D 抗体引起的 HDN 仅为 0.39%^[2]。妊娠免疫性抗 D 抗体一般是 RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿, 母-胎免疫作用或分娩时新生儿红细胞进入母体, D 抗原刺激母体而产生, 其发生率为 5%~7%^[3]。但目前对母体产生抗 D 抗体后是否一定发生 RhD-HDN 尚不清楚; 对 RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿后, 新生儿易发生 RhD-HDN, 还是 ABO-HDN 的报道也不一致, 因此, 本课题对此进行了研究, 现

报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 产前血样来自 2007 年 1 月至 2010 年 12 月向东莞市中心血站申请产前 HDN 检测的 137 例 RhD 阴性孕妇(丈夫均为 RhD 阳性), 其中, 首次妊娠 10 例, 多次妊娠 127 例; 多次妊娠孕妇均有孕产史、流产史或孕期侵入性操作史; 孕期为 8~32 周。产后血样共 40 例, 来自同期东莞市多家医疗机构送检的 RhD 阴性孕妇及其 RhD 阳性新生儿, 且新生儿均于出生 7 d 内出现高胆红素血症。

1.2 主要试剂与仪器 单克隆抗 A、抗 B、抗 D 抗体及红细胞不规则抗体筛选红细胞和谐细胞试剂购自上海血液生物技术有限公司, 微柱凝胶检测卡为西班牙 Diana 公司产品, ABO 标

* 基金项目: 东莞市科技局科技计划资助项目(2009-145)。

准试剂红细胞由东莞市中心血站输血研究室自制。主要仪器包括：KUBOTA(KA-2200)型血型血清学专用离心机(日本)、HZS-H 水浴振荡仪(哈尔滨东联电子技术开发有限公司)、OLYMPUS显微镜(日本)及 Diana 微柱凝胶专用离心机和孵育器。

1.3 检测方法 ABO 及 RhD 血型检测、HDN 直接抗球蛋白试验、血浆游离抗体试验、红细胞释放试验均按照《中国输血技术操作规程(血站部分)》的操作步骤执行,免疫性抗体检测均采用微柱凝胶法。

1.4 母亲和(或)新生儿红细胞不规则抗体的筛选及抗 D 抗体鉴定 标记 3 个微柱孔,在反应池中分别加入 1%相应筛选红细胞 25 μ L 及待检血清 25 μ L,于微柱凝胶专用孵育器孵育 10 min 后(37 $^{\circ}$ C),置专用微柱凝胶离心机离心。红细胞全部沉于微柱底部者为红细胞不规则抗体筛选阴性,全部或部分红细胞滞留于微柱凝胶孔中者为红细胞不规则抗体筛选阳性。如红细胞不规则抗体筛选为阳性,则需进行微柱凝胶法抗体特异性鉴定,以确认其是否为抗 D 抗体,操作方法同上。

1.5 母儿 ABO/RhD 血型不合的 HDN 判断 出现下列情况为 HDN 阳性:(1)母儿 ABO/RhD 血型不合;(2)新生儿直接抗球蛋白试验及新生儿血浆游离抗体试验同时阳性或新生儿抗体释放试验阳性;(3)符合高胆红素血症诊断标准。其中,出现(2)条可直接判断为 HDN 阳性。

1.6 统计学处理 采用 SAS8.1 软件进行统计学分析,计数资料的比较采用 χ^2 检验及 Fisher 确切概率法,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

127 例多次妊娠 RhD 阴性孕妇产前共检测到免疫性抗 D 抗体 16 例(12.60%),其中 2 例孕妇产后不能证实发生了 RhD-HDN,其余病例失访。10 例首次妊娠孕妇均未检测到免疫性抗 D 抗体。40 例产后 RhD 阴性孕妇生产的新生儿确认有 13 例(32.50%)发生 HDN,其中检出抗 D 抗体共 10 例(25.00%),由抗 D 抗体引起 HDN 7 例(17.50%),有 3 例虽产生抗 D 抗体,但并未发生 HDN;另有 6 例(15.00%) HDN 由 IgG-A/B 所致,未发现二者同时阳性的病例。RhD 阴性多次妊娠孕妇产前血清抗 D 抗体的检出率与首次妊娠孕妇比较,差异无统计学意义($P>0.05$),但明显低于产后抗 D 抗体的检出率($P<0.05$)。

表 1 RhD 阴性孕妇妊娠的 RhD 阳性新生儿的 HDN 发病情况[n(%)]

| 诊断 | 母儿 ABO 配合性 | | 血型系统 | |
|-------|------------|-----------|-----------|-----------|
| | 配合(n=24) | 不配合(n=16) | ABO(n=13) | Rh(n=40) |
| HDN | 4(16.66) | 9(56.25)* | 6(46.15) | 7(17.50)# |
| 非 HDN | 20(83.34) | 7(43.75) | 7(53.85) | 33(82.50) |

*: $P<0.05$,与 HDN 的 ABO 配合项比较;#: $P<0.05$,与 HDN 的 ABO 血型系统项比较。

RhD 阴性多次妊娠孕妇妊娠的 RhD 阳性胎儿产后发生 HDN 与母儿 ABO 血型配合性及血型系统的相关性分析显示:母儿 ABO 血型配合者,HDN 的发病率为 16.66%(4/24),低于母儿 ABO 血型不配合者的发病率[56.25%(9/16)]($P<0.05$);属 ABO 血型系统者 HDN 的发病率(46.15%)高于属

Rh 血型系统者的发病率(17.50%, $P<0.05$),见表 1。
RhD 阴性多次妊娠孕妇生产 RhD 阳性新生儿,母儿 ABO 血型配合时产后血清抗 D 抗体的检出率为 60.00%(6/10),不配合时抗 D 抗体的检出率为 40.00%(4/10),二者之间差异无统计学意义($P>0.05$)。

3 讨 论

抗 D 抗体并非天然存在,而通常在机体受到免疫刺激后产生。孕妇血清中抗 D 抗体的产生与胎儿红细胞中存在的 D 抗原及后者进入母体血液的量有直接关系。若 RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿,通常在孕 5 个月左右会产生抗 D 抗体^[4],但 RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿一般在首次妊娠不会发生 HDN,这可能与免疫性抗体的低效价有关,但这类孕妇在二次妊娠时会发生严重的 HDN,常导致流产、死胎等,因此,产前检测母体血清抗 D 抗体效价可预测是否会发生 HDN 及溶血程度,抗体效价越高,HDN 发生的概率越大,溶血程度越重^[5-6]。

现已知黄种人中 RhD 阴性者约有 30%无论输入任何剂量的 RhD 阳性血液,均不产生抗 D 抗体,其余 70%产生抗 D 抗体的概率取决于 RhD 阳性红细胞进入机体的数量,一般认为血量低于 30 mL 时,往往不足以引起初次应答,但当 RhD 阴性受血者输入大量 RhD 阳性的红细胞时,约有 85%的受血者在输注后 2~5 个月的血浆中检测到抗 D 抗体。但在 RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿时,随妊娠时间和次数的增加,胎儿红细胞进入母体血液的量也相应增加,有研究发现妊娠早期母体血液循环中胎儿红细胞的出现率为 6%~7%,晚期可达 30%^[7-8],这种情况下,大约有 5%~7%的 RhD 阴性孕妇产生抗 D 抗体^[3],本资料中,首次妊娠孕妇均未检出抗 D 抗体,多次妊娠孕妇产生抗 D 抗体的概率为 12.60%,低于谭兵等^[9]及李焯等^[10]报道的 RhD 阴性孕妇产前免疫性抗 D 抗体阳性率(分别为 31%、27.5%)。本资料显示产后孕妇抗 D 抗体的阳性率为 25.00%,与刘舒鑫等^[11]报道的有流产史及生产史 RhD 阴性孕妇抗 D 抗体的检出率(25.8%)基本一致。由于不能排除检测样本量大小、检测时间等因素的影响,本次资料中并不能表明多次妊娠者抗 D 抗体的检出率高于首次妊娠。尽管本调查中产前孕妇抗 D 抗体的检出率低于产后,但由于产前有多数孕妇失访,因此,产前孕妇抗 D 抗体的检出率与产后发生 HDN 的相关性尚不明确。

有研究发现 RhD 血型不合导致的 HDN 主要发生在 RhD 阴性孕妇再次妊娠 RhD 阳性胎儿时,有人报道 RhD-HDN 发病率为 5.5%,ABO-HDN 发病率为 37.0%,母儿 ABO 血型不相合者抗 D 抗体阳性率低于 ABO 血型相合者,ABO 血型不合对 Rh 系统 HDN 的发生存在一定保护作用^[12-13],这是由于母体和胎儿血液 ABO 不相容时,红细胞会首先受到抗 A 或抗 B 抗体的破坏^[14]。本研究 RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿时,产后 RhD-HDN 发病率为 17.5%,明显低于 ABO-HDN 发病率为 46.15%,未发现同时发生 ABO-HDN 及 RhD-HDN 病例,且属 ABO 血型系统者 HDN 的发病率高于 Rh 血型系统者,母儿 ABO 血型不相合者抗 D 抗体阳性率高于 ABO 血型相合者,这些均表明 ABO 血型不合对 RhD 血型不合致 HDN 有免疫保护作用,这与文献^[12-15]报道的结论相一致,原因可能与 ABO 血型抗原的性质、抗原性、抗原的发育成熟过程、进入的红细胞量、免疫次数以及机体对抗原刺激的应答等诸多因

素有关。

虽然 RhD 阴性孕妇妊娠 RhD 阳性胎儿产后血清检测到抗 D 抗体仅 10 例 (25.00%), 7 例 (17.50%) 发生 HDN, 但 RhD-HDN 的症状重, 产前积极预防非常重要, 临床可采用胎儿脐静脉输血、孕妇血浆置换以及注射免疫球蛋白进行治疗^[16]。除了检测产前抗 D 抗体效价, 对胎儿 RhD 血型的检测也很必要, 有文献报道可以从母体血浆中提取胎儿 DNA, 或从母体血液中分离胎儿有核红细胞进行血型鉴定, 还可以在胚胎植入前进行 RHD 基因检测, 以减少由 RhD 血型不合引起的 HDN, 而最有效的措施莫过于通过胚胎选择 RhD 阴性的胚胎植入 RhD 阴性的母体^[1], 但该技术的应用还受到许多因素的限制。

参考文献:

- [1] 李小红, 柳青, 丘彦. RHD 基因与新生儿溶血病[J]. 重庆医学, 2004, 33(12): 1883-1885.
- [2] 郭萍, 杨通汉, 陈璐. Rh 抗体引起 HDN 病例回顾分析[J]. 中国实用医药, 2010, 19(5): 118-119.
- [3] 赵桐茂. 人类血型遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 1987.
- [4] 初瑞雪, 孟卫东, 吴晓军. RhD 阴性患者的自身输血 5 例[J]. 中国输血杂志, 2002, 15(3): 193.
- [5] Achargui S, Benchemsi N. A quantitative determination of IgG anti-D subclasses by Elisa in hemolytic disease of the newborn[J]. Transfus Clin Biol, 2003, 10(4): 284-291.
- [6] 高峰. 输血与输血技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 69-99.
- [7] Savithrisowmya S, Singh M, Kriplani A, et al. Assessment of fetomaternal hemorrhage by flow cytometry and

Kleihauer-Betke test in Rh-negative pregnancies[J]. Gynecol Obstet Invest, 2008, 65(2): 84-88.

- [8] Rubod C, Deruelle P, Le Goueff F, et al. Long-term prognosis for infants after massive fetomaternal hemorrhage[J]. Obstet Gynecol, 2007, 110(2 Pt 1): 256-260.
- [9] 谭兵, 张国珍, 李青, 等. 微柱凝胶技术在 Rh(D) 阴性孕妇抗 D 检查中的应用[J]. 重庆医学, 2008, 37(14): 1586-1587.
- [10] 李烛, 王更银, 李振奇, 等. RhD 阴性孕妇抗-D 水平与婴儿预后的关系[J]. 临床输血与检验, 2005, 7(1): 51-52.
- [11] 刘舒鑫, 姚若进, 朱欣. 50 例 Rh 阴性血型孕妇的妊娠结局分析[J]. 实用妇产科杂志, 2008, 24(11): 685-688.
- [12] Tovey LA. Rh haemolytic disease of the newborn; the role of the laboratory assay[J]. Med Lab Sci, 1982, 39(4): 300.
- [13] 朱传福, 王攻, 李京. Rh(D) 阴性孕产妇 IgG 抗体检测分析[J]. 中国输血杂志, 2006, 19(2): 128-129.
- [14] 李勇, 马学严. 实用血液免疫学: 血型理论和实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006.
- [15] Nasser F, Mamouri GA, Babaei H. Intravenous immunoglobulin in ABO and Rh hemolytic diseases of newborn[J]. Saudi Med J, 2006, 27(12): 1827-1830.
- [16] Payam Khaja Pasha R, Shokri F. Immunologic basis and immunoprophylaxis of RhD induced hemolytic disease of the newborn (HDN)[J]. Iran J Immunol, 2008, 5(4): 189-200.

(收稿日期: 2011-11-17 修回日期: 2011-12-05)

(上接第 747 页)

- sedation in dogs treated with dexmedetomidine[J]. Am J Vet Res, 2005, 66(2): 260-265.
- [6] Ickeringill M, Shehabi Y, Adamson H, et al. Dexmedetomidine infusion without loading dose in surgical patients requiring mechanical ventilation: haemodynamic effects and efficacy[J]. Anaesth Intensive Care, 2004, 32(6): 741-745.
- [7] Khan ZP, Ferguson CN, Jones RM. alpha-2 and imidazoline receptor agonists. Their pharmacology and therapeutic role[J]. Anaesthesia, 1999, 54(2): 146-165.
- [8] 刘东, 于布为. 右旋美托咪啉的药理和临床应用[J]. 国外医学麻醉学与复苏分册, 1995, 16(4): 232-234.
- [9] 于红, 张志捷. 右美托咪啉用于小儿气管异物取出术的麻醉观察[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(4): 669-671.
- [10] 仇琳, 姜虹. 右旋美托咪啉在气道管理中的镇静应用[J]. 上海医学, 2009, 32(11): 1020-1022.

- [11] 李晓峰, 卓艺芬, 翁建森. 右旋美托咪啉在眼科手术中的应用[J]. 中国实用医药, 2010, 36(5): 57-59.
- [12] 黄金平, 陈雪敏, 何秀文, 等. 右旋美托咪啉复合丙泊酚用于无痛人流术的临床观察[J]. 昆明医学院学报, 2010, 31(9): 116-119.
- [13] Yildiz M, Tavlan A, Tuncer S, et al. Effect of dexmedetomidine on haemodynamic responses to laryngoscopy and intubation: perioperative haemodynamics and anaesthetic requirements[J]. Drus R D, 2006, 7(1): 43-52.
- [14] 杨敬涛, 甯交琳, 曹剑, 等. 小剂量右旋美托咪啉对老年高血压患者围麻醉期间血压的影响[J]. 重庆医学, 2010, 39(17): 2310-2311.
- [15] 张志捷, 王珊珊, 徐辉. 右美托咪啉预防芬太尼引起呛咳反应的临床研究[J]. 实用医学杂志, 2011, 27(4): 671-673.

(收稿日期: 2011-11-25 修回日期: 2012-01-03)