

岳阳地区完成第 1 例血小板基因配型输注

祝青 苏湘辉 向雅香 谭涛

(岳阳市中心血站 湖南省岳阳市 414000)

摘要: 目的 反复输注血小板或血小板输注无效患者通过对血小板抗体检测和 HLA-A、HLA-B、HPA 基因检测实验, 确定患者血小板基因型, 进行血小板配合型输注, 提高血小板输注效果。方法 固相凝集法检测患者血小板抗体, 抗体阳性者利用荧光定量 PCR 进行 HLA-A、HLA-B、HPA 基因检测, 在血小板供者基因库中寻找基因匹配的供者。结论 解决血小板输注无效须采用配合型输注。
关键词: 岳阳; 血小板输注无效 (PTR); HLA-A、HLA-B、HPA 基因检测; 血小板供者基因库

血小板输注无效的原因可分为免疫性因素和非免疫性因素。免疫因素主要包括 HLA 抗体、ABO 血型非同型输注、抗-CD36 抗体、HPA 抗体和自身抗体等。非免疫因素主要由 DIC、发热、感染、脓毒症、严重出血、脾大、药物等导致的小血小板输注无效^[1]。

血小板表面存在众多复杂的血型抗原, 反复大量输注血小板可导致 50%左右患者产生同种免疫性抗体, 是红细胞同种抗体产生频率的数十倍。在血小板抗体中 HLA 抗体占多数, 大约 79.9%, HLA 抗体与 HPA 抗体共存者占 17.6%, HPA 抗体占 2.7%。HLA 抗体阳性虽然发生率高, 但 HLA 抗体阳性的患者中只有 30%发生 PTR, HPA 抗体发生率虽低, 但导致的 PTR 比 HLA 抗体更为常见^[2]。

目前, 国内输注血小板仅要求 ABO 同型, 不做 HLA 和 HPA 配型。因此, 当患者反复输注血小板时, 血清中可产生血小板同种抗体 (HLA 和 HPA 抗体), 当再次输入相应抗原血小板后, 会产生血小板抗原和抗体的免疫反应, 导致输注的血小板被破坏, 引起 PTR, 甚至加重出血、危及生命。PTR 的发生率随着患者血小板输注次数及累积剂量的增加而增高^[3-4]。免疫因素引起的小血小板输注无效必须采用配合型输注措施, 否则盲目输注随机血小板将导致严重的输血反应。血小板配型模式可分为血清学交叉配型、基因型配型、回避抗体对应抗原。利用各种配型方法的特点, 可实现抗原配合并回避已有抗体。患者存在 HLA 抗体时, 宜选择基因配型和回避抗体对应抗原配型的联合模式。^[5]

本实验室通过对患者基因配型模式完成岳阳地区第 1 例血小板配型输注, 现报道如下。

1 材料与方

1.1 病例资料 患者, 女, 77 岁, 2022 年 2 月因原发性骨髓

表 2 HPA 基因分型结果

	HPA-1	HPA-2	HPA-3	HPA-4	HPA-5	HPA-6	HPA-10	HPA-15	HPA-21
患者		1aa	2aa	3aa	4aa	5aa	6aa	10aa	15aa 21aa

2.3 由于 HLA 抗原众多, 故供者与受者 HLA 抗原完全一致的概率极低。在无 HLA-A、HLA-B 位点全相同的情况下, 可采用交叉反应组 (CREG) 相同的配型策略。血小板供者基因库中与患者基因配合的供者如表 3

表 3 与受者基因匹配数据

	HLA-A1	HLA-A2	HLA-B1	HLA-B2	CREG	供者来源	动员时间
患者	11	11	46	54			
供者 MZM	11:01:01	11:01:01	46:01:01	54:01:01	A 级	骨髓库	2022.3.21
供者 TMY	11:01:01	11:01:01	46:01:01	54:01:01	A 级	骨髓库	2022.3.21
供者 WHL	11:01:01	11:01:01	46:01:01	54:01:01	A 级	骨髓库	
供者 CCH	11:01:01	11:01:01	46:01:01	54:01:01	A 级	骨髓库	
供者 XW	11:01:01	11:01:01	46:01:01	54:01:01	A 级	骨髓库	
供者 YY	11:01:01	11:01:01	46:01:01	54:01:01	A 级	骨髓库	
供者 WB	11:XX	11:XX	13:XX	40:XX	B2UX 级	骨髓库	
供者 ZHB	11:01	11:01	15:02	35:01	B2UX 级	血小板库	
供者 HW	11	11	13	15	B2UX 级	骨髓库	
供者 10	02	11	13	46	C 级	血小板库	
供者 11	02	11	40	46	C 级	血小板库	

2.4 2022 年 3 月 23 日患者完成 1 个治疗量 HLA 基因完全配合的血小板输注, 24 小时血小板从 $1 \times 10^9/L$ 升至 $20 \times 10^9/L$, 消化道和

纤维化晚期入院治疗, 有多次输血史, 无药物过敏史。血清学检测显示: A 型 RHD (+), 血小板 $1 \times 10^9/L$ 出现消化道和鼻腔粘膜出血。2 月 21 日患者血清学检测血小板抗体为强阳性, 多次输注血小板均无效。患者病情凶险, 危急生命。

1.2 试剂与仪器 DNA 提取试剂为江苏康为世纪生物科技股份有限公司, 批号 25621; 高速离心机为 Thermo Pico17; 水浴箱为上海精宏 DK-600; 扩增试剂盒为江苏伟禾生物科技有限公司人类血小板表面抗原 HPA 与 HLA-AB 基因检测试剂盒, 批号 202204A; 漩涡混匀器为 SCIENTIFIC INDUSTRIES G-560; 离心机为北京大龙 D1008E; 平板离心机为湖南恒诺 4-5R; 荧光定量 PCR 仪为 ABI7500; 伟禾试剂配套分析软件为 WeHelpReport。

1.3 提取实验 试剂为江苏康为世纪生物科技股份有限公司, 按试剂说明书对患者 DNA 进行手工提取。

1.4 扩增实验 按试剂说明书进行试剂准备、标本处理、PCR 扩增检测。

1.5 结果数据分析 原始检测数据导入 WeHelpReport 分析软件, 分析出待检样本 HPA、HLA-A、HLA-B 基因型。

2 结果

2.1 患者 HLA 基因分型结果如表 1

表 1 HLA 基因分型结果

	HLA-A1	HLA-B1	HLA-A2	HLA-B2
患者	11	11	46	54

2.2 患者 HPA 基因分型结果如表 2

鼻粘膜出血症状得到改善。间隔一周再次输注 HLA 基因同型 1 个 (下转第 34 页)

(上接第 27 页)
治疗量血小板, 24 小时血小板升至 $26 \times 10^9/L$, 病人病情稳定。

3 讨论

对于临床出现 PTR 时, 首先需要排除非免疫因素造成的 PTR, 应以预防为主, 严格掌握血小板输注指征, 控制输注次数和剂量。对于需要长期输注血小板的患者, 应该尽早进行血小板抗体筛查及配型输注, 以防止 PTR, 尽量延缓抗体产生。

随着输血技术的发展, 为了解决免疫性血小板输注无效提供一种可行的方法, 我国从 2009 年开始在国家层面推进单采血小板献血者 HLA 和 HPA 基因数据库建设。根据中国输血协会人类组织抗原专业委员会调查, 截止 2021 年底 30 余家血液中心建立血小板供者基因库, 合计总库容量 60000 人, 11 家将配型血小板库应用到临床, 解决临床输注无效的血小板配型数量已达上千例。目前欧美国已广泛推广基因配型血小板输注, 甚至有地区倡导基因配型的全民推广。

2021 年 10 月, 本血站成功加入中国血小板血型基因库协助组, 成为全国 29 家合作单位之一, 基因库现有 700 多例单采血小板捐献者。岳阳地区首位基因配型血小板输注的 2 位供者, 均来自于岳阳市 8 万多造血干细胞志愿者基因库中。患者随机输注 6 个治疗量的血小板均无效, 不仅浪费了宝贵的血小板资源, 而且无法改善患者的病情和预后, 甚至危及其生命。配合型血小板精准输注是目前解决血小板输注无效的重要方法。

对于临床血小板输注无效患者以及需要长期输注血小板患者, 血小板配型输注带来良性循环。对患者, 减少无效医疗开支、提高治疗效果、提高治疗信心、减轻家庭精神和经济负担。对于医生, 提升治疗效果、减少精神压力、有利医患关系。对血站, 优化血小

板资源使用、形成社会效益推动血小板捐献、扩大供者库提高配型成功率。

血小板基因配型输注的推广为临床精准输血治疗迈进了一步, 但是目前血小板基因配型项目的推广还受到一些因素的制约。第一, 检测项目的收费大多未列入医疗收费标准, 一定程度上也影响到血小板抗体检测和 HLA、HPA 基因配型在临床的推广应用。第二, 无偿单采血小板供者库队伍还需不断扩容, 以提高配型机率。^[6]希望不久的将来血小板抗体检测和基因配型的应用能更好的服务于临床输血, 提高血小板输注疗效。

参考文献:

- [1]杜春红, 徐佩琦, 李红学. 血小板输注无效相关因素的研究进展[J]. 临床输血与检验, 2006, 18(1): 87-89.
- [2]胡维, 何巍巍, 胡志坚. 血小板抗体检测与患者血小板输注效果的分析[J]. 中国输血杂志, 2011, 24(5): 427-428.
- [3]李廷孝, 周育林, 李新菊, 等. 血液病多次输血者血小板抗体与血小板输注效果和反应的关系[J]. 中华内科杂志, 2003, 42(8): 582-583.
- [4]饶美英, 叶水文, 张楠, 等. 多次输血患者血小板抗体检测及输注效果分析[C]. //中国医师协会输血分会 2013 年第七届输血学术年会论文集. 2013: 195-197.
- [5]朱发明, 毛伟, 张志欣. 血小板配合性输注的分析和展望[J]. 中国输血杂志, 2022, 35(11): 1097-1100.
- [6]苏湘晖, 孙昂, 粟玉萍, 徐莎, 谭涛. 岳阳地区无偿单采血小板捐献现状调查和血小板供者库扩容[J]. 中国误诊学杂志, 2019, 0(4): 148-150.