

江夏地区人群 RhD(一)血型系统基因频率的分布

童胜兰¹ 吴洋¹ 向长港¹ 朱宇芳²

【摘要】目的:探讨 RhD 阴性血型基因及其 MN、P 血型基因在江夏地区人群中的分布频率。方法:采用血清学方法对江夏区 42 940 例住院患者及健康体检者进行 RhD、C、c、E、e、M、N、P₁ 抗原表现型检测。结果:共检出 RhD 阴性 136 例,其中 ccee 76 例(50.88%), CCee 10 例(7.35%), Ccee 42 例(30.88%), ccEe 6 例(4.41%), CcEe 2 例(1.47%)。从而得出 RhD 阴性者中 C 基因频率为 0.235 3, c 基因频率为 0.764 7, E 基因频率为 0.029 4, e 基因频率为 0.706, 基因组合体频率为 cde=0.042, Cde=0.012 6, cdE=0.001 7, CdE=0, 并对 M、N 及 P₁ 抗原进行了分布调查,其中 M 型 34 例(25%), N 型 64 例(47.06%), MN 型 38 例(27.94%), P₁ 型 50 例(36.76%)。结论:RhD 阴性表型按频率由高到低依次为 deecc>decC>deeCC>dEecc>dEeCc, 由单倍型来看 cde 是江夏地区 RhD 阴性中最常见单倍型, Cde 次之, 结果比较符合中国汉族 RhD 阴性血型中 Rh 单倍型和基因频率分布状况。同时对 RhD 阴性血的 MN 及 P 系统有初步的了解。

【关键词】 Rh 血型系统; MN 血型系统; P 血型系统

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.02.019

【中图分类号】 R457.1 **【文献标志码】** A

Gene frequency distribution of RhD negative blood group system in Jiangxia area

TONG Shenglan¹ WU Yang¹ XIANG Changgang¹ ZHU Yufang²

(¹Department of Clinical Laboratory, Frist Renming Hospital of Jiangxia District of Wuhan, Wuhan, 430200, China; ²Department of Clinical Laboratory, Xiangyang Central Hospital)

Corresponding author: ZHU Yufang, E-mail: xcg_0412@163.com

Abstract Objective: To explore the distribution of RhD negative and MN/P blood groups among Jiangxia district in Wuhan. **Method:** A total of 42 940 inpatient and healthy individuals were tested for RhD, C, c, E, e, M, N and P₁ phenotype by serological experimental in Frist Renming Hospital of Jiangxia district. **Result:** It was totally detected 136 D-negative blood samples, among which were 5 Rh phenotypes: 76 cases of ccee (50.88%), 10 cases of CCee (7.35%), 42 cases of Ccee (30.88%), 6 cases of ccEe (4.41%), and 2 cases of CcEe (1.47%). Among RhD negative individuals, gene frequencies for C, c, E, and e were 0.235 3, 0.764 7, 0.029 4 and 0.706, respectively. cde, Cde, cdE and CdE chromosome frequencies were 0.042, 0.012 6, 0.001 7 and nearly 0, respectively. M, N and P₁ antigen distribution investigation displayed that 34 cases of M (25%), 64 cases of N (47.06%), 38 cases of MN (27.94%) and 50 cases of P₁ (36.76%). **Conclusion:** The frequency of RhD negative phenotype from high to low was deecc, decC, deeCC, dEecc and dEeCc. Among them cde was the most haplotype in Jiangxia district, and Cde came second. The distribution feature of Rh haplotype and gene frequency among Jiangxia were similar to those among Han population in China. And we had a first impression of MN and P blood group system in RhD negative.

Key words Rh blood group system; MN blood group system; P blood group system

血型系统(blood group system)是根据红细胞膜上同种异型抗原关系进行分类的组合。Rh 血型是人类红细胞上 30 多个红细胞血型系统中最复杂和最具多态性的,该血型至少由 57 种不同的抗原组成^[1]。MN 血型系统,即红细胞膜上的血型糖蛋白 A,它根据红细胞上所含 M、N 抗原的不同,将人体血液分为 M 型、N 型和 MN 型 3 种。MN 血型系统也是法医实践中运用得比较广泛的一个系统,在已知的人类血型基因中是最具突变性的血型系

统。P 血型系统是 ABO 血型系统之外的另一个血型系统,其基因位于 22 号染色体上。其抗原以糖脂形式存在,包括 P₁、P₂、Pk₁、Pk₂ 以及 p 5 种表型^[2]。其中 Rh 血型系统仅次于 ABO 血型系统,在溶血性输血反应和新生儿溶血病等方面有重大意义^[3-4]。本文对 2015-11—2016-08 入院体检的 42 940 例患者进行了 RhC、RhD、RhE 抗原及 M、N、P 抗原分布调查,有助于指导临床进行 Rh 阴性受血者科学、合理、有效、安全输血。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

BY-320A 离心机(北京白洋医疗器械有限公

¹武汉市江夏区第一人民医院检验科(武汉,430200)

²襄阳市中心医院检验科

通信作者:朱宇芳, E-mail: xcg_0412@163.com

司);抗 A 和抗 B 标准血清和人 ABO 血型反定型用红细胞,抗-A、抗-B、IgG 单克隆抗-D、抗-C、抗-c、抗-E、抗-e、抗-M、抗-N、抗-P₁、抗球蛋白试剂(上海血液生物医药有限责任公司)。

1.2 血样和血清学检测

2015-11-2016-08 我院在 42 940 份血液中通过血清学试验筛选出 RhD 阴性供血者 136 例(RhD 阴性率为 0.317%),各抽取 EDTA-K2 抗凝血 2 mL,-20℃ 保存。所有血样再次用微量板进行 RhD 抗原初筛,并进行 Rh 血型系统、MN 系统、P 系统分析。

1.3 统计学分析

采用 SPSS16.0 统计学软件进行处理,计数资料用百分数(%)表示,表型期望值与实际观察值采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

42 940 例患者 RhD 阴性者 136 例,阴性率 0.3167%,其中 A 型血为 49 例(36.03%),B 型血为 42 例(30.88%),O 型血为 40 例(29.41%),AB 型血为 5 例(3.68%)。在 RhD 阴性患者中,共检出 5 种表现型,其中 ccee 76 例(50.88%),CCee 10 例(7.35%),Ccee 42 例(30.88%),ccEe 6 例(4.41%),CcEe 2 例(1.47%),详见表 1。

根据以上信息得出 RhD 阴性患者中,C 基因频率为 0.2353,c 基因频率为 0.7647,E 基因频率为 0.0294,e 基因频率为 0.706,基因组合体频率为 $cde = 0.042$, $Cde = 0.0126$, $cdE = 0.0017$, $CdE = 0$,自由度 $d, f = 2$,结果表明预期值和观察值之间差异无统计学意义,Hardy-Weinberg 吻合度良好。表明调查数据准确、可靠,详细计算结果见表 2。

Rh 血型的表型可以用 Rh 抗原特异性单克隆抗血清检测相应抗原来确定,但是仅用血清学方法检测不能够确定 Rh 血型基因型,基因型在不同人群和种族中具有很强血型基因多态性特征,在亲子鉴定及家系分析中比较重要,Rh 基因型也可以根据单倍型频率来估计,见表 3,准确确认必须采用复杂的分子生物学试验来检测 RHD、RHCE 基因。

MN 及 P₁ 血型分布:在 136 例 Rh 阴性患者中,对其进行 MN 系统分型,共检出 3 种表现型,其中 M 型 34 例(25.0%),N 型 64 例(47.06%),MN 型 38 例(27.94%),详见表 4。

在 136 例 Rh 阴性患者中,对其进行 P 系统分型,其中 P₁ 型 50 例(36.76%),其余 P₂,Pk₁,Pk₂,p 型共 86 例(63.24%),详见表 5。

表 1 136 例 RhD 阴性患者 Rh 抗原表现型结果例

ABO 血型	Rh 表现型					合计/例(%)
	eecc	eeCC	eeCc	Eecc	EeCc	
A	27	3	17	2	0	49(36.03)
B	27	3	9	2	1	42(30.88)
O	20	2	15	2	1	40(29.41)
AB	2	2	1	0	0	5(3.68)
合计	76	10	42	6	2	136(100.00)

表 2 RhD 阴性血型分布及 Hardy-Weinberg 吻合度检测结果

表型	观察值	预期值	χ^2
ddeecc	76(55.88)	75.746(55.69)	0.0009
ddeeCC	10(7.35)	6.817(5.01)	1.486
ddeeCc	42(30.88)	45.448(33.42)	0.2616
ddEecc	6(4.41)	6.256(4.6)	0.0105
ddEeCc	2(1.47)	1.84(1.35)	0.0139
合计	136	136	1.7729

3 讨论

Rh 血型系统临床意义仅次于 ABO 血型系统。临床相关的主要抗原为 D、C、c、E、e 等 5 种,抗原性强弱次序为 $D > E > C > c > e$,D 抗原是最重要的输血反应抗原和引起新生儿溶血病的主要血型抗原。Rh 基因包括 RHD 和 RHCE 2 部分,RHD 编码 D 抗原,RHCE 编码 Cc/Ee 抗原,2 者均位于 1

号染色体短臂,2 个基因同源性高达 96%~97%^[5],都含有 10 个内含子和 10 个外显子。Rh 血型系统具有 2 个公认的遗传特征,首先具有广泛的抗原多态性,其次在不同人群,甚至在同一国家不同地区等位基因频率存在差异,中国不同人群的 Rh 抗原表型和基因频率已见不少报道,但是没有针对我地区的 Rh 血型基因分布和遗传学报道。因

表 3 我地区 Rh 表现型和基因型及其频率

DCcEe	表型	基因型	基因频率
-+--+	dCCee	dCe/dCe	0.016
--++-	dcEE	dcE/dcE	0.000*
--+-+	dccee	dce/dce	0.176
-+-+-	dCCEE	dCE/dCE	0.000*
-++-+	dCcee	dCe/dce	0.053
--+++	dcEe	dcE/dce	0.007*
-+-++	dCCeE	dCE/dCe	0.000*
-+++-	dCcEE	dCE/dcE	0.000*
-++++	dCcEe	dCE/dce	0.000*
		dcE/dCe	0.000*

注:* 极少见基因型。

表 4 136 例 RhD 阴性患者 M/N 抗原分布

ABO 血型	MN 抗原			合计/例(%)
	M	N	MN	
A	13	22	14	49(36.03)
B	12	22	8	42(30.88)
O	7	19	14	40(29.41)
AB	2	1	2	5(3.68)
合计	34	64	38	136(100.00)

表 5 136 例 RhD 阴性患者 P1 抗原分布

ABO 血型	P1	其他 P 抗原	合计/例(%)
A	18	31	49(36.03)
B	13	29	42(30.88)
O	15	25	40(29.41)
AB	4	1	5(3.68)
合计	50	86	136(100.00)

此,本文以大量的检测和资料为基础准确计算了江夏地区患者和体检者 Rh 抗原、等位基因、单倍型的分布频率,同时进行了 MN 系统,P 系统相应抗原分布调查,较全面的分析了 Rh 血型在江夏地区的分布特点,为研究 RHCE 基因表达多态性提供了基础材料,有助于江夏地区指导临床进行 Rh 阴性受血者科学、有效输血。

本文对我院住院及体检的 42 940 例患者进行了 RhC、RhD、RhE 抗原及 M、N、P 抗原分布调查,并对统计结果做 Hardy-Weinberg 吻合度检验,吻合度良好,其血型检测结果符合本区整体人群血型基因遗传定律,可认为本文得到的 Rh 抗原表型和单倍型频率数据是可靠的。我们对 RhD 阴性血型进行 C、c、E、e 分型得到 5 种表现型,分别为 eecc、eeCC、eeCc、Eecc、EeCc,其中较多的表型为 eecc,其中 EeCc 仅 2 例,表明其分布具有江夏地区特点,而未发现 EEcc、EECC、EECc 表型,见表 2,国外统计同类研究中这些表型也属于罕见表型,发现频率小于十万分之一^[6],而这些稀有的表型可能因基因突

变具有重要的分子生物学研究价值。

笔者发现 RhD 阴性表型按频率由高到低依次为 deecc > deeCc > deeCC > dEecc > dEeCc,其中 RhCE 表型以 deecc(50.88%)、deeCc(30.88%)为主。根据 Rh 血型 3 个紧密连锁基因座上的 C、c、E、e、D、d 等 6 个基因组成的 8 种基因组合体,也就是 DCe、DcE、DCE、dCe、dCE、dcE、dce、Dce,单倍型自由组合可以产生 18 种表型,根据基因平衡遗传规律,利用 18 种表型的抗原基因信息,采用方根法得出 Rh 抗原基因频率和单倍型频率,经 Hardy-Weinberg 吻合度检验证实,该方法准确、可靠,由此得出的 Rh 表型预期值符合本文观察值,国内其他同类文献也证实该方法可以用来计算 Rh 血型基因频率和单倍型频率。由单倍型来看 cde 是我地区 RhD 阴性中最常见单倍型,Cde 次之,具体为 cde=0.042,Cde=0.0126,cdE=0.0017,CdE=0,而中国汉族人群 cde 频率为 0.0452,Cde 频率为 0.008 2,cdE 频率为 0.003 2,由此看来,我地区比较符合中国汉族 RhD 阴性血型中 Rh 单倍型和基

因频率分布状况^[7],这与我地区汉族人较多有关。

本文同时对 RhD 阴性血的 MN 及 P 系统中 M、N 及 P₁ 抗原进行了分布调查,我们得到 M 型占 25.0%,N 型占 47.06%,MN 型占 27.94%,P₁ 型占 36.76%。对 RhD 阳性标本的 MN 及 P 血型系统有待进一步研究。这对江夏地区除了 ABO, Rh 血型外的其他血型系统有了更多的了解,扩充了数据。

了解本地区 RhD 阴性血型的分布特点,有利于本地区稀有血型档案库的建立,使其在临床中得到合理应用。随着分子生物学检测技术的不断完善及国内血型工作者的不断努力,对中国人 Rh 血型分子遗传背景的研究会更加透彻,更加完善不同地区 RHD/RHCE 基因分型方法,临床输血和优生学提供更加准确可靠的数据,也为 Rh 血型遗传背景积累更多的资料。

参考文献

[1] 刘英,孟广艳,葛艳玲. 324 例 RhD(-) 孕妇抗 D 抗体检测及分析[J]. 临床血液学杂志:输血与检验,2015, 28(2):276-277.

- [2] 郭杰,林杰,陈荣仓. 温州地区献血者 MN、P 血型分布调查[J]. 医药前沿,2016,6(10):374-375.
- [3] Tchakarov A, Hobbs R, Bai Y. Transfusion of D+ red blood cells to D-individuals in trauma situations [J]. *Immunohematology*, 2014, 30:149-152.
- [4] Sassi A, Ouchari M, Houissa B, et al. RhD genotyping and its implication in transfusion practice [J]. *Transfus Apher Sci*, 2014, 51:59-63.
- [5] 孙学兰,崔珍,庞桂芝,等. 新乡地区 48 例 RhD 阴性汉人 RHD 基因多态性研究 [J]. 现代预防医学, 2016, 43(10):1855-1858.
- [6] Zacarias J, Langer I, Visentainer J, et al. Profile of Rh, Kell, Duffy, Kidd, and Diego blood group systems among blood donors in the Southwest region of the Parana state, Southern Brazil [J]. *Transfus Apher Sci*, 2016, 3:521-526.
- [7] 杨亚艳,赵继华,沈学耕. 无偿献血人群 Rh 血型分布情况调查及信息资料库的建立 [J]. 医学信息, 2015, 15(28):209-209.

(收稿日期:2017-07-24)

(上接第 140 页)

ABO 血型系统是人类发现最早的血型系统,也是抗原性最强的血型系统之一,ABO 溶血引起的 HDN 的比例比其他血型系统如 Rh 系统为多^[1]。从数据来看,ABO 溶血数占阳性标本的 98.29%,远高于 Rh 溶血的 1.71%。大部分 Rh-HDN 发生在母亲是 Rh 阴性的时候,抗体类型有抗 D,抗 E,抗 cD 等^[1]。我站检测出的新生儿 Rh 溶血系统 HDN 母亲均为 Rh 阴性,其中抗 D 抗体检出 8 例为 80%。

ABO-HDN 以 A、B 型为主,而 Rh-HDN 中,以 O 型最为常。A 型患儿溶血症 344 例,B 型 231 例,分别占 ABO-HDN 59.72%、40.10%。从结果来看 A 型血患儿 ABO-HDN 阳性率明显高于 B 型患儿,差异有统计学意义。

本次调查中发现,男性患儿共检测 534 例,其中阳性 282 例,女性患儿共检测 469 例,其中阳性 303 例,经过统计发现女性患儿 HDN 发生率明显高于男性患儿。同时发现患儿出生 7 d 内送检标本的 HDN 阳性率明显高于超出 7 d 后标本的阳性率,这可能与 HDN 本身的进程、临床治疗后阳性

率下降有关系。

综上所述,HDN 的诊断须通过 HDN 3 项试验来证实,其中直抗试验的阳性结果是区别 ABO 和 Rh 溶血病的重要标志,放散试验结果是判断 HDN 的直接证据。HDN 中 ABO-HDN 主要集中在 A、B 型患儿中,其中 A 型血 HDN 的发生率明显高于 B 型;Rh-HDN 的发生率明显低于 ABO-HDN,其中抗-D 抗体引起的溶血居多。女性患儿 HDN 的发生率明显高于男性患儿。出生 7 d 内患儿标本 HDN 的阳性检出率明显高于出生 7 d 后的标本,所以一旦怀疑为 HDN 时,宜尽早采集血标本送检。

参考文献

- [1] 刘达庄. 免疫血清学[M]. 上海:上海科学技术出版社,2002:128-129,131.
- [2] 田兆嵩,何子毅,刘仁强,等. 临床输血质量管理指南[M]. 北京:科学技术出版社,2011:275-277.
- [3] 李京. 临床输血与检验技术[M]. 天津:天津科学技术出版社,2008:139-142.

(收稿日期:2017-08-30)