

• 论 著 •

Rh 血型抗原抗体检测对保障输血安全的意义

吴敏华, 蔡 葵, 刘棋枫

(佛山市第一人民医院输血科, 广东 528000)

摘要:目的 探讨 Rh 血型系统抗原、抗体检测在安全输血中的意义。方法 对 2012 年 8 月至 2013 年 5 月在该院住院的 2 700 例输血患者进行 Rh 系统抗原表型检验和抗体筛查。结果 Rh 血型抗原表型所占比例由高到低依次为 CCDee、CcDEe、CcDee、ccDEE、CCDEe, 5 种抗原基因频率由高到低依次为 D、e、C、c、E。结论 对于接收输血者及供血者,除了要做必需的常规检查外还应进行其他 4 种 Rh 血型抗原表型的检查及相应抗体的鉴定,从而避免因输血而产生免疫性抗体,给患者再次输血带来困难。

关键词: Rh 血型系统; 抗原; 抗体; 基因频率; 输血安全

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)03-0308-03

The significance of Rh blood group antigen and antibody detection in guaranteeing the safety of blood transfusion

Wu Minhua, Cai Kui, Liu Qifeng

(Department of Blood Transfusion, the First Hospital of Foshan, Guangdong 528000, China)

Abstract: Objective Investigate the significance of the antibody and antigen detection of Rh blood group. **Methods** Detecting Rh blood group antigen phenotypes and screen Rh blood group antibodies in 2 700 inpatients from August 2012 to May 2013. **Results** Rh blood group antigen phenotypes in descending order of proportion were as follows: CCDee, CcDEe, CcDee, ccDEE, CCDEe. 5 antigen genes in descending order of frequency were D, e, C, c, E. **Conclusion** For donors and donees, in addition to routine tests, the other 4 types of antigen and antibodies in Rh blood group should be detected too, which helps avoid secondary transfusion difficulty because of the immunity antibodies generated in blood transfusion.

Key words: Rh blood group; antibody; antigen; gene frequency; transfusion safety

Rh 系统是一种极为复杂的血型系统,红细胞上的 Rh 复合物存在丰富的抗原表位,具有很强的免疫原性,在临床输血中,其重要性仅次于 ABO 系统。在一般的常规交叉配血中, Rh 血型只检测 D 抗原,并没有对 E、C、c、e 这些抗原进行检查,但某些患者在接受多次输血或孕妇多次分娩后,血液中会产生相应抗体,再次输血时可能会引起输血反应。本院输血科对 2 700 例输血患者进行了 Rh 抗原表型和 Rh 抗体检测,通过回顾性分析这些患者 Rh(D)、Rh(C)、Rh(c)、Rh(E)、Rh(e) 血型抗原以及相应抗体的分布情况,旨在探讨 Rh 血型系统抗原、抗体检测在安全输血中的意义,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2012 年 8 月至 2013 年 5 月于本院住院并进行输血的 2 700 例患者,其中男 1 252 例、女 1 448 例,年龄 6~82 岁。

1.2 仪器与试剂 抗 D(IgM+IgG)、抗 C、抗 c、抗 E、抗 e 抗体(来自上海血液生物制剂中心),抗体筛选细胞(一套 3 种)和谱细胞(一套 10 种)为上海血液生物医药责任公司产品,抗人球蛋白凝胶反应卡为强生公司产品。主要仪器包括孵育仪(美国强生公司产品)与离心机(贝索生物技术有限公司产品)。

1.3 方法

1.3.1 Rh 抗原检测 取小试管 5 支,分别标记“抗 D”、“抗 C”、“抗 E”、“抗 c”、“抗 e”,按标记分别加入用于分型的抗 D(IgG+IgM)、抗 C、抗 E、抗 c、抗 e 抗体血清 1 滴,再分别加入 5% 受检者红细胞悬液一滴,混匀,以 1 000×g 离心 15 s,将试管轻轻摇动,用肉眼观察有无凝集或溶血现象。

1.3.2 结果判断 如凝集则表示受检者红细胞上有相应抗

原;若无凝集则表示受检者红细胞上无相应抗原。用 5 种抗 Rh 血清可检测 18 种抗原表型。

1.3.3 Rh 抗体检测 先用抗体筛选谱细胞(一套 3 种)进行意外抗体筛选,抗人球蛋白凝胶反应卡各加入 0.8%~1% 试剂红细胞悬液 50 μL,然后加入患者血清 50 μL,在孵育仪 37℃ 孵育 15 min,1 000 r/min 离心 10 min,肉眼观察结果,红细胞均匀沉于管底者为阴性,悬浮于凝胶表面或凝胶中段者为阳性。对意外抗体阳性的标本用 10 种谱细胞进行抗体类型鉴定(方法同上),然后统计 Rh 系统阳性抗体。

1.4 统计学处理 数据的录入与计算采用 Excel 2003 软件进行。

2 结 果

检测为 E 抗原阴性的有 1 695 例(62.8%),c 抗原阴性的有 1 502 例(55.6%),e 抗原阴性有 137 例(5.1%),C 抗原阴性有 193 例(7.1%),D 抗原阴性有 7 例(0.26%)。Rh 血型抗原表型所占比例由高到低依次为 CCDee、CcDEe、CcDee、ccDEE、CCDEe;5 种抗原阴性所占百分率由高到低依次为 E、c、C、e、D。其中,D 抗原阳性而 E 阴性 1 692 例(62.6%),D 抗原阳性而 c 阴性 1 501 例(55.6%),D 抗原阳性而 C 阴性 191 例(7.1%),D 抗原阳性而 e 阴性 138 例(5.1%)。见表 1。

表 1 Rh 血型系统抗原表型分布

RH 血型抗原表型	n	所占比例(%)
ccdee	1	0.04
ccdEE	1	0.04
ccdEe	0	0.00

续表 1 Rh 血型系统抗原表型分布

RH 血型抗原表型	n	所占比例(%)
CcdEe	0	0.00
CcdEE	0	0.00
Ccdee	3	0.11
CCdEE	0	0.00
CCdEe	0	0.00
CCdee	2	0.07
ccDee	2	0.07
ccDEE	127	4.70
ccDEe	62	2.30
CcDEe	769	28.48
CcDEE	11	0.41
CcDee	221	8.18
CCDEE	0	0.00
CCDEe	32	1.19
CCDee	1 469	54.41
合计	2 700	100.00

2 700 例患者 D、C、c、E、e 抗原频率和基因频率分布,见表 2。抗原频率为该抗原阳性例数与统计总例数之比;基因频率计算根据 Hardy-Weinberg 定律,采用文献[1]的方法。结果得出 5 种抗原基因频率由高到低依次为 D、e、C、c、E。Rh 血型系统抗体分布,见表 3

表 2 2 700 例患者 D、C、c、E、e 抗原频率和基因频率

项目	D	C	c	E	e
抗原频率(%)	99.7	92.8	44.3	37.1	94.8
基因频率	0.937 5	0.739 7	0.263 1	0.205 8	0.801 3

表 3 20 例 Rh 血型系统抗体检测阳性者的抗体分布

特异性抗体	n	所占比例(%)
抗 E 抗体	11	55.0
抗 c 抗体	3	15.0
抗 cE 抗体	2	10.0
抗 Ce 抗体	1	5.0
抗 D 抗体	2	10.0
抗 e 抗体	1	5.0

3 讨 论

天然产生的 Rh 抗体极为少见,几乎所有的 Rh 抗体都是由于输入血型不合的血液或母体 Rh 血型不合的妊娠等同种免疫作用而产生^[2-4]。笔者对本院 2 700 例输血患者进行 Rh 血型系统抗原及产生的意外抗体分类,发现 Rh 血型抗原表型所占比例由高到低依次为:CCDee、CcDEe、CcDee、ccDEE、CCDEe。5 种抗原基因频率由高到低依次为 D、e、C、c、E;5 种抗原阴性所占比例由高到低依次为 E、c、C、e、D。从表 1 可以看出 E 抗原阴性的比例最高(62.8%),其次是 c 抗原(55.6%)。表 3 显示检出的 20 例抗体阳性者中,抗 E 抗体 11 例(55%),比例最高,其次是抗 c、抗 cE 联合抗体分别是 3 例

(15%)和 2 例(10%),符合抗原阳性与阴性的百分率越接近,产生抗体的机会也越多的规律^[5]。

本研究中,D 抗原阳性而 E 阴性者 1 692 例(62.6%),D 抗原阳性而 c 阴性 1 501 例(55.6%),D 抗原阳性而 C 阴性 191 例(7.1%),D 抗原阳性而 e 抗原阴性者 138 例(5.1%),而 D 抗原阳性 E、c 联合阴性者 1 469 例(54.4%)。这表明即使常规检测 Rh(D)抗原,输血过程中也可能因其他 4 种抗原-抗体反应而产生溶血反应。张杰等^[6]报道因为 E、c 抗原性较强,若 E 和 c 抗原阳性血输入的比例较高会导致 E 和 c 抗原为阴性的患者在反复多次输血的情况下,体内抗 E 和抗 c 抗体的滴度逐渐增加,最终可能发生溶血反应。

虽然 D 抗原性最强,但中国汉族人 Rh D 抗原阴性率极低(0.26%),故抗 D 抗体少于 Rh 系统其他几种抗原免疫产生的抗体,并且中国《临床输血技术规范》要求输血前要常规检查患者 Rh D 血型,并对 Rh D 阴性患者采用自身输血、同型输血或配合型输血,避免了盲目输血所致的免疫反应,抗 D 产生的频率有下降趋势。表 3 中两例 D 抗体阳性者均为经产妇怀孕两次以上而产生。鉴于中国人 E、c 抗原频率分布阴、阳性接近的特点,接受输血者与献血者在 Rh E、Rh c 等抗原均未知情况下输血,使得 Rh E、Rh c 阴性接受输血者产生同种免疫的可能性大大增加,而在这方面造成疑难配血及新生儿溶血病的可能性也较欧洲的白种人多^[7]。母亲与新生儿 Rh 血型不合可引起不同程度的新生儿溶血病,朱碎永等^[8]报道,由抗 D 及 Rh 其他系统抗体引起新生儿溶血病较其他血型系统多见(ABO 血型系统除外),但后遗症和病死率却高于 ABO 系统,这些患儿母亲都曾有妊娠史或输血史。因此对产前尤其是对曾有过妊娠史或输血史的孕妇做产前夫妻 Rh 血型和孕妇 Rh 免疫性抗体筛查极有必要,可以对新生儿溶血病做出早期诊断和治疗,达到优生优育的目的。

在中国,人群中红细胞血型意外抗体出现最多的是 Rh 血型系统,据蔡葵等^[9]报道中统计,38 例产生意外抗体的输血患者中,Rh 血型系统的抗体占了 83%。不同种族人群红细胞 Rh 血型遗传多态性决定了其抗原表型存在差异,接受 Rh 血型抗原免疫的机率也不同,Rh 血型抗体的检出频率及抗体特异性分布也存在人群及地区差异。伍伟健等^[10]对佛山地区献血员的分布频率做了统计,与本院输血患者的抗原分布频率无明显差异,因此会导致在输血中产生抗体的概率较高,所以国内目前仅常规检测 Rh D 抗原是远远不够的。

综上所述,对于接受输血者及供血者,除作必需的常规检查外还应进行 Rh 血型其他 4 种抗原类型检查和相应的抗体鉴定,以便输血科及时筛选好 Rh 抗原类型相合的血液,满足临床需要,避免因输血而产生免疫性抗体,给患者再次输血带来困难。

参考文献

- [1] 赵桐茂.人类血型遗传学[M].北京:科学出版社,1987:351-353.
- [2] 秦凤芝,董丽娜.交叉配血不合临床分析[J].黑龙江医药,2000,13(4):257-258.
- [3] 夏慧新.马鞍山市建立 Rh 阴性稀有血型库分析[J].中国基层医药,2001,8(2):147-148.
- [4] 王立萍,阎东河,赵月凯等.多次输血、妊娠产生 Rh 血型抗体 16 例[J].中国输血杂志,2005,18(3):249-250.
- [5] 高秀俊.102 例输血患者红细胞血型不规则抗体鉴定与分布频率[J].中外医学研究,2013,11(13):118.
- [6] 张杰,方晓蕾,禹梅,等.Rh 血型系统在安全输血(下转第 312 页)

表 4 TRAF1/C5 rs10818488 位点基因型频率和等位基因频率的自身抗体分层比较

分组	n	基因型[n(%)]			等位基因[n(%)]			
		GG	GA	AA	G	P	OR	95%CI
对照组	300	72(24.0)	153(51.0)	75(25.0)	303(50.5)	—	—	—
RF 阳性组	204	36(17.6)	96(47.1)	72(35.3)	240(58.8)	0.01	1.40	1.09~1.81
RF 阴性组	96	30(31.3)	48(50.0)	18(18.7)	84(43.7)	0.10	0.76	0.55~1.06
抗-CCP 阳性组	237	42(17.7)	123(51.9)	72(30.4)	267(56.3)	0.06	1.26	0.99~1.61
抗-CCP 阴性组	63	24(38.1)	21(33.0)	18(28.6)	57(45.2)	0.28	0.81	0.55~1.91
抗-Sa 阳性组	141	33(23.4)	66(46.8)	42(29.8)	150(53.2)	0.46	1.11	0.84~1.48
抗-Sa 阴性组	159	33(20.7)	78(49.1)	48(30.2)	174(54.7)	0.22	1.18	0.90~1.56

—:无数据。

3 讨论

TRAF1 介导 TNF 受体 1、2 和 CD40 参与的信号转导途径,而 TNF 是 RA 发病机制中的重要细胞因子^[3]。TRAF1 还与 T 细胞的活化增殖有关^[4],TRAF1 基因敲除的小鼠 T 细胞过度增殖或受到 T 细胞受体复合物刺激时过度增殖以应答 TNF。TRAF1 在这些信号转导途径中起到负调节作用以维持炎症反应的环境^[5],从而在 RA 中发挥作用。虽然 TRAF1 在多种受体介导的信号通路中起作用,但 TRAF1 的分子机制还没有完全阐明,其在 RA 中作用有待于进一步研究。补体途径也参与了 RA 的发病,C5 裂解成促炎症反应的 C5a 和 C5b,进而启动攻膜复合物的形成。RA 患者关节滑液持续的炎症反应与高水平的 C5a 同时存在^[6]。小鼠模型研究证实了 C5 基因是 RA 的候选基因,同时证明了 C5 缺陷的小鼠可抵抗炎性关节,表明了 C5 基因在炎症反应中的作用^[7-8]。因此,C5 在 RA 发病机制中可能通过上调 RA 患者关节腔内补体活化程度来起作用。

本研究发现 TRAF1/C5 的两个 SNPs 存在基因多态性,但 RA 组与对照组相比差异无统计学意义($P>0.05$),可能与贵州汉族人群 RA 易感性无关,这一结果与其他人种研究结果不尽相同^[1,9-10]。这一情况说明 RA 的遗传异质性,不同人种之间遗传学研究结果常不相同。经连锁不平衡分析发现 TRAF1/C5 两个 SNPs 位点在对照组人群中呈现高度连锁不平衡($D' = 1.000, r^2 = 0.852$),与 HapMap 发布的数据基本一致($r^2 = 1$),但构建的单倍体基因型则与 RA 发病不相关($P>0.05$)。由于国内外大量的病例-对照研究均局限于验证基因与 RA 患者的关联性,较少涉及这些多态性位点的单倍体基因型,因此单倍体基因型与 RA 的关系有待于不同种族、大样本量的研究证实。另外本研究还发现 TRAF1/C5 基因 rs3761847 位点 A 等位基因与 RF 阴性、抗-CCP 阴性及抗-Sa 阴性相关,这表明该位点可能增加自身抗体阴性 RA 者的易感性;rs10818488 位点 G 等位基因仅与 RF 阳性相关,表明该位点可能在 RF 阳性者 RA 的发病中起重要作用,但是受到标本量的影响,这些结果还有待于进一步加大样本量进行分析,目前的研究结果也存在争议^[1,9]。

本研究首次以贵州汉族人群为研究对象,结果显示 TRAF1/C5 SNPs 基因型或多态性位点可能与贵州汉族人群

RA 的发病无关,可能是由于受到样本量较小,TRAF1/C5 SNPs 单倍体基因型及等位基因与 RA 患者血清学指标之间的关系没有得到很好的证实。

参考文献

- [1] Plenge RM, Seielstad M, Padyukov L, et al. TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis—a genome-wide study[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357(12): 1199-1209.
- [2] Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria; an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 69(9): 2569-2581.
- [3] Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis[J]. *Nature*, 2003, 423(6937): 356-361.
- [4] Sabbagh L, Srokowski CC, Pulle G, et al. A critical role for TNF receptor-associated factor 1 and Bim down-regulation in CD8 memory T cell survival[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2006, 103(49): 18703-18708.
- [5] Tsitsikov EN, Laouini D, Dunn IF, et al. TRAF1 is a negative regulator of TNF signaling; enhanced TNF signaling in TRAF1-deficient mice[J]. *Immunity*, 2001, 15(4): 647-657.
- [6] Högåsen K, Mollnes TE, Harboe M, et al. Terminal complement pathway activation and low lysis inhibitors in rheumatoid arthritis synovial fluid[J]. *J Rheumatol*, 1995, 22(1): 24-28.
- [7] Wang Y, Kristan J, Hao L, et al. A role for complement in antibody-mediated inflammation; C5-deficient DBA/1 mice are resistant to collagen-induced arthritis[J]. *J Immunol*, 2000, 164(8): 4340-4347.
- [8] Ji H, Gauguier D, Ohmura K, et al. Genetic influences on the end-stage effector phase of arthritis[J]. *J Exp Med*, 2001, 194(3): 321-330.
- [9] Zhu J, Zhang D, Wu F, et al. Single nucleotide polymorphisms at the TRAF1/C5 locus are associated with rheumatoid arthritis in a Han Chinese population[J]. *BMC Med Genet*, 2011, 12(1): 53.
- [10] 朱婷婷, 赵东宝. 肿瘤坏死因子受体相关因子 1 基因多态性与上海市汉族人群类风湿关节炎患者疾病易感相关性的研究[J]. *中华风湿病学杂志*, 2011, 15(1): 22-25.

(收稿日期:2014-11-10)

(上接第 309 页)

中的意义[J]. *河北医学*, 2013, 19(2): 302-304.

- [7] 于天华, 遇红梅, 梁海英, 等. 5050 名患者 Rh 分型及不规则抗体鉴定结果分析[J]. *中国输血杂志*, 2012, 25(8): 756-758.
- [8] 朱碎永, 朱燕英, 林甲进. 新生儿 Rh 溶血病的检查分析及预防[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2007, 15(3): 68-69.

- [9] 蔡葵, 陈卓文, 容伯芬. 输血病人的意外抗体筛查[J]. *医学检验与临床*, 2012, 23(2): 37-38.
- [10] 伍伟健, 罗海玲, 黄昌海, 等. 佛山地区无偿献血者 Rh 血型分布情况调查[J]. *中国免疫学杂志*, 2010, 26(2): 182-185.

(收稿日期:2014-10-10)