

陕西地区 RhD 阴性儿童患者 Rh 表型分布特征研究

刘静娟^{1,2}, 李越¹, 何谦¹, 周晓艳¹, 尹阳¹, 肖珊珊¹

(1. 西安交通大学第二附属医院检验科, 西安 710004; 2. 西安交通大学附属儿童医院输血科, 西安 710003)

摘要: 目的 了解陕西地区 RhD 阴性儿童血型表型的多态性, 为儿童输血提供科学安全的参考依据。方法 随机选取 2018 年 9 月~2019 年 4 月于西安交通大学附属儿童医院就诊的 59 582 例儿童血细胞检测标本, 采用试管法检测 RhD 抗原。筛选的 RhD 阴性标本用间接抗人球蛋白法进行确认, 并调查其 C, c, E, e 抗原表现型频率。结果 检出 RhD 阴性儿童 269 例, Du 2 例, 陕西地区儿童患者 RhD 阴性率为 4.48‰, 其中男性 147 例, 女性 120 例。不同性别的 RhD 阴性儿童患者的 ABO 血型构成比不全相同。继续深入分析 2019 年 1~4 月期间就诊的儿童患者中, 91 例确认的 RhD 阴性标本 ccee 的表型频率为 46.15% (42/91), Ccee 为 40.66% (37/91), ccEe 为 6.59% (6/91), CCee 为 4.40% (4/91), CcEe 为 1.10% (1/91) 和 ccEE 为 1.10% (1/91)。结论 陕西地区 RhD 阴性儿童患者中, B 型男性人群多于女性, A 型女性人群多于男性。Rh 表现型以 ccee 和 Ccee 为主, CcEe 和 ccEE 表型频率最低, Rh 血型表型分布研究对促进临床儿童输血安全具有重要意义。

关键词: 儿童; RhD 阴性; 表型分布

中图分类号: R457.1 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 03-066-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.03.016

Distribution of RhD Phenotypes among RhD-negative Children Patients in Shaanxi Province

LIU Jing-juan^{1,2}, LI Yue¹, HE Qian¹, ZHOU Xiao-yan¹, YIN Yang¹, XIAO Shan-shan¹

(1. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China;

2. Department of Blood Transfusion, Children's Hospital Affiliated to Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710003, China)

Abstract: Objective To explore the serological distribution polymorphism of Rh phenotypes in RhD negative children patients in Shaanxi Province, we aimed to provide a scientific and safe reference for children's blood transfusion. **Methods** Randomly selected 59 582 children's blood samples from Children's Hospital of Xi'an Jiaotong University from 2018-9 to 2019-4, and they were tested for RhD antigen by test tube method. Screening of RhD-negative specimens was confirmed by indirect anti-human globulin method, and the frequency of C, c, E, e antigen phenotype was determined. **Results** 269 RhD-negative children patients and 2 Du were detected, and the RhD-negative rate of children patients in Shaanxi was 4.48‰, including 147 males and 120 females. There were the significant differences in ABO blood group composition ratios for RhD-negative children with different sex. Continued to analyze recent 91 cases of confirmed RhD-negative children patients from the period of 2019-1 to 2019-4, in which the phenotype frequency of ccee was 46.15% (42/91), Ccee was 40.66% (37/91), ccEe was 6.59% (6/91), CCee was 4.40% (4/91), CcEe was 1.10% (1/91), and ccEE was 1.10% (1/91), respectively. **Conclusion** Among children patients with RhD-negative type in Shaanxi Province, male B blood group individuals were more than female and female A blood patients were more than male. The serological phenotype of Rh was mainly ccee and Ccee, and the CcEe and ccEE phenotype was the lowest, providing a great clinical significance for safe blood transfusion in clinical RhD-negative children.

Keywords: children; RhD-negative; phenotype

在我国, RhD 阴性血型属于稀有血型, 在汉族人群中所占比例约为 0.2%~0.5%。在临床输血治疗中, Rh 血型系统是仅次于 ABO 血型系统的最重要和最富有多态性的一个系统。有关汉族献血人群 Rh 血型表型分布特征常有报道^[1-2], 但迄今为止, 对临床 RhD 阴性患者的 Rh 表型分布特征的研究较

少。了解临床 RhD 阴性患者的血型分布特征, 将有利于供血机构为临床预估及时提供相匹配血液, 有效的预防和减少患者抗 Rh 类抗体的产生。在临床输血治疗中, Rh 系统抗原抗体不匹配可引起溶血性输血反应、新生儿溶血病及自身免疫性溶血性贫血。为了使 RhD 阴性儿童输血治疗中能及时安

作者简介: 刘静娟 (1984-), 女, 硕士研究生, 从事输血方面相关研究, E-mail: 13572968932@163.com。

通讯作者: 何谦 (1971-), 女, 博士, 主任技师, 从事医学检验工作及研究, E-mail: qianh0511@163.com。

全合理地用血,本研究对在医院就诊的儿童RhD阴性表型进行筛选,并对其血型分布特点进行了研究。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2018年9月~2019年4月,在西安交通大学附属儿童医院门诊及住院就诊的59 582例儿童血细胞检测标本,经初筛为RhD阴性的血样标本,排除一人多次就诊患儿共收集标本269例。其中,男性148例,女性121例,年龄1~15岁。

1.2 试剂与仪器 ABO血型鉴定正定型用抗A抗B血型定型试剂,反定型用人ABO血型反定型试剂(单克隆抗体,上海血液生物有限责任公司)。RhD血型初筛使用抗D(IgM+IgD)血型定型试剂[(单克隆抗体,英国Millipore(UK)Limited)]。对于初筛阴性者,使用抗人球蛋白试验确认,以排除弱D抗原(Du)。Rh血型抗D抗原确认试剂使用IgG-D试剂(上海血液生物医药有限公司),抗D(IgM+IgG)血型定型试剂(单克隆抗体)来自英国Millipore(UK)Limited公司。Ig-M抗-C,抗-c,抗-E,抗-e为上海血液生物有限公司产品。抗人球蛋白(抗IgG, C3d)生产于上海血液生物医药有限公司。主要仪器为Baso2005-1离心机, himac MC450全自动血细胞洗涤离心机,恒温箱。

1.3 研究方法 采集患儿静脉血2ml, EDTA-K₂抗凝。ABO血型、Rh血型均用试管法,对患儿标本用IgM/IgG-D进行初筛,对初筛标本用两种不同厂家的抗-D试剂用间接抗人球蛋白法实验确认。配3~5g/dl的红细胞悬液取50 μ l分别加入两只试管,分别加IgM/IgG-D, IgG-D 1滴置37 $^{\circ}$ C水浴30min, MC450全自动血细胞洗涤离心机洗涤3次,加入50 μ l抗人球蛋白试剂离心观察结果。Rh表型用试管法检测,配3~5g/dl的红细胞悬液留用,加Ig-M型抗-C,抗-c,抗-E,抗-e离心观察结果。

1.4 统计学分析 RhD阴性患者的表型分布比较采用Pearson χ^2 检验方法,使用SPSS 18.0软件进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 RhD阴性筛查结果 在59 582例儿童患者中经试管法及间接抗人球蛋白法检测确定了267例RhD阴性(初筛269例中排除2例Du型), RhD阴性频率约为0.448%(4.48%);在267例RhD阴性儿童患者中,女性占44.94%,男性占55.06%。

2.2 RhD阴性儿童患者在ABO血型中的分布 在267例确定的RhD阴性儿童患者中,其在ABO血型系统内的分布情况见表1。不同性别儿童在ABO

血型系统间的分布比较,其差异有统计学意义(Pearson χ^2 检验, $\chi^2=10.720$, $P=0.013$)。在B型、AB型RhD阴性患者中,男性比例显著高于女性。在A型RhD阴性儿童患者中,女性比例显著高于男性。

表1 RhD阴性儿童患者在ABO血型中的分布

ABO血型	RhD阴性		
	n	男(n=147)	女(n=120)
A型	73	32(43.84)	41(56.16)
B型	75	50(66.67)	25(33.33)
O型	98	50(51.02)	48(48.98)
AB型	21	15(71.43)	6(28.57)

2.3 RhD阴性儿童患者在Rh血型系统中的表型分布 继续深入分析从2019年1~4月期间就诊的儿童患者,共有91例确认的RhD阴性标本,其中,共检出6种Rh表型(见表2),分别为: ccee表型42例(46.15%), Ccee表型37例(40.66%), ccEe表型6例(6.59%), CCEe表型4例(4.40%), CcEe表型1例(1.10%), ccEE表型1例(1.10%),各表型间的分布较不平衡,其中ccee表型最高, Ccee次之,而CcEe和ccEE的表型频率最低。

3 讨论

ABO血型和Rh血型系统被认为是两个最重要的血型系统,其血型抗原普遍存在于红细胞、血小板、内皮细胞等组织细胞中。Rh血型系统,作为人类已知最复杂多形的血型之一^[3],其与临床输血密切相关的主要有5个抗原,可按免疫强弱顺序依次为D>E>c>C>e,临床上根据红细胞D抗原的有无,可分类红细胞为Rh阳性或Rh阴性。Rh血型系统的D抗原的抗原性和重要性仅次于ABO抗原。同源基因RHD和RHCE位于1号染色体,可编码Rh血型系统D, C, E抗原。除了其在输血医学中的重要作用外, Rh血型抗原,特别是D抗原,与最严重的胎儿和新生儿溶血性疾病(HDFN)密切相关^[4-5]。

近年来,随着临床治疗的需要和输血治疗的增加,人们对输血越来越重视,对科学且安全的输血要求也越来越高,尤其对儿童输血更加谨慎。目前,临床输血采用ABO和RhD配合型输注,而Rh血型系统的其他抗原采用随机性输注。国家二胎政策的放开,新生儿溶血病的发病率明显提高,儿科疑难配血也越来越多, Rh血型系统新生儿溶血患儿明显增多,然而目前对Rh血型系统人群的分布特征的描述一般均来自于献血人群,而对临床Rh阴

性患者人群的了解较少,对我国儿童Rh阴性人群的研究未见相关报道^[6]。因此,在本研究中,我们从2018年9月~2019年4月在西安交通大学附属儿童医院门诊及住院就诊的59 582例儿童血细胞检测标本中,调查了确认的267例RhD阴性儿童患者的ABO血型分布情况,其中,在B型RhD阴性儿童患者,男性比例显著高于女性;在A型RhD阴性儿童患者,女性比例显著高于男性。对女性人群,强调进一步的Rh表型检测的临床意义将更为重要,有利于尽可能避免产生抗Rh C/E类抗体,从而减少对女性潜在的妊娠生育的影响。

进一步选择近期(2019年1~4月)就诊的总计91例RhD阴性儿童患者,分析研究其在Rh血型系统中的表型分布。RhD阴性人群理论上应该存在9种Rh表型,但在本研究中我们仅发现6种表型,CcEE, CCEe和CCEE表型未在本研究中检测发现,这与我国相关研究结果是相似的^[7-8]。从这些相关文献报道中也可见,CCEe和CcEE的表型频率极低,CCEE表型较罕见。在本研究中,ccee和Ccee表型最为常见,分布频率分别为46.15%(42/91),40.66%(37/91),ccEe和CCee少见,而CcEe和ccEE的表型频率最低。因此,Rh血型抗原在RhD阴性儿童患者中的分布也存在一定的差异性,了解其分布差异性对于临床儿童输血工作具有重要参考作用。徐朴等^[6]人报道,在湖北汉族RhD阴性住院患者中Ccee表型频率为27.6%。张薇薇等^[7]人研究西安地区RhD阴性献血者抗原分布后,报道Ccee表型频率为28.5%。本研究Ccee表型明显高于相关研究结果,这种差异可能与研究人群的例数或儿童患者的Rh阴性表型分布特征相关。其余ccEe等表型分布与南方地区的相关研究对比,未见地域分布差异^[8]。

总而言之,本地区RhD阴性儿童患者人群的Rh表型分布是不平衡的,因此在临床输血中不能只单纯地进行D抗原检测,进一步强调对抗-C,抗-c,抗-E和抗-e抗体分型是极其重要的。在未来的工作中,我们还将进一步研究儿童患者中D变异型。本研究结果对于补充我国儿童人群的Rh血型分布特征的相关知识、临床预估并及时预备合适的RhD阴性血液、保证儿童输血安全具有重要意义。

参考文献:

- [1] 王剑锋,兰爱侠,陈春红,等. 陕西铜川地区无偿献血人群Rh血型表型分布调查[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(2): 91-92,96.
WANG Jianfeng, LAN Aixia, CHEN Chunhong,

et al. Survey of Rh blood type phenotypes in unpaid blood donors in Tongchuan area of Shaanxi province [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2018,33(2):91-92,96.

- [2] 步晓筠,刘建成,邵峰,等. 宁夏地区回族无偿献血者ABO和Rh血型基因频率分布的研究[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(9): 1222-1224.
BU Xiaoyun, LIU Jiancheng, SHAO Feng, et al. Distribution of ABO and Rh blood group and gene frequencies of Hui nationality donors in Ningxia[J]. Laboratory Medicine and Clinic,2019,16(9):1222-1224.
- [3] AHMADI M H, HANTUOSHZADEH S, OKHOVAT M A, et al. Fetal RHD genotyping from circulating cell-free fetal DNA in plasma of Rh negative pregnant women in Iran[J]. Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion, 2016, 32(4): 447-453.
- [4] AVENT N D, REID M E. The Rh blood group system: a review[J]. Blood, 2000, 95(2): 375-387.
- [5] 洪毅. 不规则抗体致新生儿溶血病换血治疗的研究分析[J]. 现代检验医学杂志, 2016, 31(6): 135-137.
HONG Yi. Analysis of irregular antibodies induced by treatment of neonatal hemolysis[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine,2016,31(6):135-137.
- [6] 徐朴,李艳,何紫琪,等. 湖北汉族RhD阴性住院患者Rh表型分布特征研究[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(3): 300-301.
XU Pu, LI Yan, HE Ziqi, et al. Distribution investigation of RhD negative phenotype among hospitalized Hubei Han Chinese patients[J]. Laboratory Medicine and Clinic,2016,13(3):300-301.
- [7] 张薇薇,左琴琴,毛娟,等. 西安地区Rh阴性献血者抗原分布及D变异型分子机制的研究[J]. 中国输血杂志, 2018, 31(11): 1223-1225.
ZHANG Weiwei, ZUO Qinqin, MAO Juan, et al. Investigation of Rh phenotypes in RhD negative blood donors and the molecular mechanism of RhD variants in Xi'an blood donors [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion,2018,31(11):1223-1225.
- [8] 何清,周童菲,朱祥明. 昆明地区RhD阴性献血者表现型调查分析[J]. 云南医药, 2018, 39(1): 18-20.
HE Qing, ZHOU Tongfei, ZHU Xiangming. Statistical analysis of distribution of Rh blood group antigen in RhD negative blood donors in Kunming[J]. Medicine and Pharmacy of Yunnan, 2018,39(1):18-20.

收稿日期: 2019-12-26

修回日期: 2020-02-01