

• 调查报告 • doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.27.027

广西地区不同壮族人群 Kell 血型系统抗原基因分布特征的研究*

周 燕,申卫东,周先果,刘金莲,莫秋红
(南宁输血医学研究所/南宁中心血站,南宁 530007)

[摘要] 目的 了解广西地区不同地域壮族人群 Kell 血型系统 k 和 K、Jsa 和 Jsb 抗原的分布和基因多态性特征。方法 采用聚合酶链反应-序列特异性引物法(PCR-SSP)方法对 1 025 名广西地区不同壮族人群的 Kell 血型系统进行基因分型。结果 广西地区不同壮族人群 Kell 血型系统基因频率为 K=0.000 0,k=1.000 0;Jsa=0.000 0,Jsb=1.000 0。结论 广西地区不同壮族人群 Kell 基因频率分布呈单态性分布,与文献报道的中国其他的人群分布特点一致。

[关键词] Kell 血型系统;基因频率;广西[壮族自治区];PCR-SSP

[中图分类号] R394.4

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)27-3827-03

The characteristic of gene polymorphism of Kell blood group in Zhuang population from Guangxi region in China*

Zhou Yan, Shen Weidong, Zhou Xianguo, Liu Jinlian, Mo QiuHong

(Nanning Institute of Transfusion Medicine/Nanning Blood Center, Nanning, Guangxi 530007, China)

[Abstract] **Objective** To investigate gene polymorphism of Kell blood group in different Zhuang population from Guangxi region. **Methods** The genotypes of Kell blood group of 1025 non-related individuals in different areas of Guangxi Zhuang population were analyzed by PCR-SSP. **Results** The Kell antigen in all individuals was homozygous, the gene frequency of K and Jsa was 0, while that of k and Jsb was 1.000. **Conclusion** The distribution characteristic of Kell blood group in Guangxi Zhuang population was monomorphism, which was similar to other Chinese population reported by literatures.

[Key words] Kell blood-group system; gene frequency; Guangxi; PCR-SSP

在目前国际输血协会已确认的 33 个红细胞血型系统中, Kell 血型系统是仅次于 ABO 和 Rh 的第三大血型系统^[1];抗-Kell 血型系统抗原的抗体能介导免疫输血反应和新生儿溶血症。Kell 血型系统抗原发现于 1946 年,源自于患者 Kelleher 检测出抗-Kell 抗体而导致她的新生儿产生溶血性疾病,该抗体相应抗原即为 Kell 血型系统的第 1 个抗原 K;1949 年 Levine 发现了 Kell 系统的第 2 个抗原 k。1958 年 Giblett 在黑人中发现了 Kell 血型系统中的新抗原 Jsa,1963 年 Walker 发现了 Jsa 的对偶抗原 Jsb,迄今已发现了 25 个 Kell 血型系统的抗原。k 和 K 抗原是 Kell 血型系统中最具有临床意义的 Kell 抗原,在不同人群中有不同的频率分布。在大多数人群中,k 抗原较 K 抗原常见,黑人群人中 98% 是 K-k⁺ 表型,高加索人群中为 91%^[2];而 Jsb 则为高频抗原。目前国内有关 Kell 血型系统的研究多建立在汉族人群的 k 和 K 抗原基础之上,对 Jsa 和 Jsb 抗原的研究甚为稀少。广西是壮族人口主要聚集地,迄今国内少见无壮族人群 Kell 血型系统的研究,壮族人群 Kell 血型系统是否与中国其他民族人群或白种人等人群存在差异?本研究采用聚合酶链反应-序列特异性引物法(PCR-SSP)对 9 个广西壮族人口分布较密集地区的人群进行 Kell 血型系统基因分型,以期了解广西壮族人群 Kell 血型系统 k 和 K 抗原, Jsa 和 Jsb 的分布和基因多态性特征。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2010~2013 年间分别从广西壮族人口聚集地武鸣、上林、隆安、宾阳、平果、大化、都安、巴马、大新共 9 个地区采集无血缘关系血液样本^[3]。本研究在采集血液样本之前均经受试对象本人的知情同意,并与之签订临床研究知情同

意书。其中武鸣地区采集 110 份样本,上林地区采集 109 份样本,隆安地区采集 110 份样本,宾阳地区采集 96 份样本,平果地区采集 120 份样本,大化地区采集 120 份样本,都安地区采集 120 份样本,巴马地区采集 120 份样本,大新地区采集 120 份样本,共 1 025 份样本。每份样本均采集 EDTA 抗凝血 5 mL,置于-20℃冰箱保存。

1.2 设备与试剂 Magcore Nucleic Acid Extraction Kit(中国台湾 RBC Bioscience,批号:PM-K14-11332),人类 Kell 红细胞血型系统基因分型检测试剂盒(美国 G&T Biotech 公司产,批号:#RB06),rTaq DNA 聚合酶[TaKaRa Biotechnology(Dalian),批号:CK7601AA],琼脂糖凝胶(西班牙 Biwest,批号 111860),DNA green 绿如蓝核酸染料(北京天恩泽基因科技有限公司,批号:108111)。MagCore® HF16 全自动核酸提取仪(中国台湾 RBC Bioscience),GeneAmp9700 型 PCR 扩增仪(美国 ABI),Runone 全套水平电泳仪(美国 Embitec),BIO-BEST 凝胶成像仪(德国 Simen)。

1.3 DNA 提取 使用 MagCore® HF16 全自动核酸提取仪,按照 MagCore® Nucleic Acid Extraction Kit 试剂说明书进行。

1.4 PCR 扩增 采用 PCR-SSP,使用序列特异性引物,通过 PCR 反应,特异性扩增 Kell 基因片段。PCR 扩增条件为:95℃ 5 min 30 个;95℃ 30 s,60℃ 30 s,72℃ 90 s,循环 30 次;72℃ 再延伸 5 min,降温至 4℃,完成扩增。

1.5 电泳 配制 2% 琼脂糖凝胶(每 100 mL 凝胶中含 5 μL DNA green 绿如蓝核酸染料),取 5 μL PCR 产物直接点样到凝胶孔中,使用 0.5×TBE 缓冲液在 100 V 电压下电泳 20 min,然后在凝胶成像分析系统下拍照记录实验结果。

* 基金项目:广西自然科学基金资助项目(2010GXNSFA013262);广西卫生厅自筹经费科研课题(Z2010196);南宁市科学研究与技术开发计划项目(201003048C-1)。 作者简介:周燕(1979-),副主任医师,硕士,主要从事输血医学研究。

表 1 广西地区不同壮族人群 Kell 血型系统抗原基因频率分布

地区		K ^{-k+}	K ^{+k-}	K ^{+k+}	J ^{s^a+b-}	J ^{s^a+b+}	J ^{s^a-b+}	基因频率	
武鸣(n=110)	观察值	110	0	0	0	0	110	K=0	k=1
	期望值	110	0	0	0	0	110	J _{sa} =0	J _{sb} =1
上林(n=109)	观察值	109	0	0	0	0	109	K=0	k=1
	期望值	109	0	0	0	0	109	J _{sa} =0	J _{sb} =1
隆安(n=110)	观察值	110	0	0	0	0	110	K=0	k=1
	期望值	110	0	0	0	0	110	J _{sa} =0	J _{sb} =1
宾阳(n=96)	观察值	96	0	0	0	0	96	K=0	k=1
	期望值	96	0	0	0	0	96	J _{sa} =0	J _{sb} =1
平果(n=120)	观察值	120	0	0	0	0	120	K=0	k=1
	期望值	120	0	0	0	0	120	J _{sa} =0	J _{sb} =1
大化(n=120)	观察值	120	0	0	0	0	120	K=0	k=1
	期望值	120	0	0	0	0	120	J _{sa} =0	J _{sb} =1
都安(n=120)	观察值	120	0	0	0	0	120	K=0	k=1
	期望值	120	0	0	0	0	120	J _{sa} =0	J _{sb} =1
巴马(n=120)	观察值	120	0	0	0	0	120	K=0	k=1
	期望值	120	0	0	0	0	120	J _{sa} =0	J _{sb} =1
大新(n=120)	观察值	120	0	0	0	0	120	K=0	k=1
	期望值	120	0	0	0	0	120	J _{sa} =0	J _{sb} =1

表 2 Kell 血型系统等位基因在不同人群中的分布

地区	n	K 频率	k 频率	J _{sa} 频率	J _{sb} 频率	χ^2	P
本组壮族	1 025	0.000 0	1.000 0	0.000 0	1.000 0		
西藏藏族 ^[4]	409	0.000 0	1.000 0	—	—	NA	NA
成都汉族 ^[5]	332	0.000 0	1.000 0	—	—	NA	NA
青海土族 ^[6]	370	0.000 0	1.000 0	—	—	NA	NA
青海蒙古族 ^[6]	240	0.000 0	1.000 0	—	—	NA	NA
青海撒拉族 ^[6]	216	0.004 6	0.995 4	—	—	9.437 6	P<0.05
巴西 ^[1]	800	0.022 0	0.978 0	—	—	45.9392	P<0.05
日本裔 ^[7]	209	0.002 4	0.997 6	—	—	4.9220	P<0.05
印度 ^[8]	115	0.030 4	0.969 6	—	—	62.5117	P<0.05
瑞士 ^[9]	4 000	0.026 8	0.973 2	—	—	56.1376	P<0.05
英国 ^[10]	8 769	0.046 0	0.954 0	—	—	98.3507	P<0.05
美国白人 ^[10]	333	0.042 0	0.958 0	—	—	86.996	P<0.05
中国台湾汉族 ^[11]	124	—	—	0.000 0	1.000 0	NA	NA
北京汉族 ^[12]	50	—	—	0.000 0	1.000 0	NA	NA
非洲黑种人 ^[13]	593	—	—	0.0818	0.9182	173.9266	P<0.05

NA:无法评估;—:无法提取数据。

1.6 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计学软件进行统计分析,不同人群基因频率分布比较采用 χ^2 检验,以显示基因频率分布的差异性。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 广西壮族人群 Kell 血型系统抗原基因频率分布情况

广西 9 个壮族聚集地的 1 025 份血样中均未发现 K(+)及 J_{sa}(+)样本,K 和 J_{aa} 基因频率为 0,而 k 与 J_{sb} 基因频率则为 1,即广西壮族人群 Kell 血型系统呈单态性分布,见表 1。

2.2 广西壮族人群与其他人群 Kell 血型系统基因多态性比

较 西藏藏族、成都汉族、青海土族及蒙古族与本组壮族相似,在人群中均未发现 K 抗原;而欧美人群中 K 抗原基因频率要明显高于中国人群。此外,J_{sa} 抗原目前也仅在非洲黑人中发现,见表 2。

3 讨 论

K 抗原在所有人群中的频率较低,而 k 抗原在所有人群中都有较高的存在率。本研究中采用 PCR-SSP 方法对本组 1 025 名壮族人群 Kell 血型系统的 K、k 抗原进行基因分型,本组壮族人群均为 kk,提示 k 基因频率为 1,Kell 血型系统呈单

态性分布,这与国内汉族、西藏藏族及青海土族、蒙古族的研究一致;另据贾嫔^[6]报道在青海地区的撒拉族中发现 1 例 Kk 杂合子,推测与当地撒拉族人群与居住在印度北部人群通婚有关。但总体而言,我国人群 K 抗原的基因频率非常低,正是由于中国人群中 K 抗原频率十分低,因此产生抗-K 抗体并且再次遇到 K 阳性血输注的概率基本为零,所以在我国 K 抗原鉴定并没有纳入常规检测范围。由于红细胞血型系统的分布有种族和地区差异,因此所介导的免疫输血反应及新生儿溶血病的主要特征也有所差别。从表 2 中可发现,白种人群中 K 抗原基因频率要明显高于中国人群($P < 0.05$),白种人群中因输血或妊娠等免疫因素而产生抗-K 抗体的概率较高,是除 ABO 和 Rh 系统以外最常见的红细胞抗体。鉴于抗-K 抗体能引起严重的免疫性输血反应和新生儿溶血病^[14-15],因此在欧美国家的输血治疗工作中,K 抗原的鉴定成为献血者和患者血型检查的常规项目。同时,对该组 1 025 名壮族人群 Kell 血型系统的 Jsa 和 Jsb 抗原进行基因分型检测,广西壮族人群与台湾汉族、北京汉族类似,均未发现 Jsa 抗原存在。由于全球对 Jsa 和 Jsb 抗原的分布研究尚少,目前仅在非洲黑人中报道过 Jsa 抗原的存在,故而本研究结果丰富了国内 Jsa 和 Jsb 抗原分布的研究,且结果也与文献报道相一致。

与其他血型系统类似,Kell 血型也有无效型,称为 K0 型,Chown 于 1957 年在国际报道,1984 年郝露萍等^[16]报道了国内 1 例 K0 型;2007 年上海血液中心在 24 093 名健康无偿献血者中发现 1 例 K0 型,其发生率与国外研究类似,约为 0.004%^[17]。而在本次研究中,并未发现 K0 型,估计与样本数量有关。但值得注意的是,K0 型个体若被免疫后能产生抗 Ku 抗体,该抗体能与除 K0 表型以外所有的红细胞反应,同样可引起新生儿溶血病及溶血性输血反应。这提示在今后的临床输血实践中,要警惕 K0 型的存在及可能引起的免疫异常性疾病的发生。

此外,以往的红细胞血型研究多采用经典的血清学方法,虽然该方法较为直接且简单易行,但也存在一些不足,如某些红细胞血型系统的抗血清难以获得、效价低、价格昂贵等,因此对该部分血型系统不适合采用血清学方法进行大规模筛选。进入 21 世纪以后,分子生物学技术发展迅速,使运用以 DNA 为基础的基因分型技术检测红细胞血型成为可能。血型基因分型技术检测结果准确、成本低,更为重要的是 DNA 标本容易保存,利于核查,适合大规模筛查。基因分型的分子生物学技术的发展也使得建立稀有血型供者库,为临床提供稀有红细胞成为可能,这在本文的研究工作中得到充分的认证。

广西南宁作为东盟国际博览会的永久举办地,国际交流与合作日益频繁,且当今社会的流动性已较以前大为增加,因此在医疗实践中遇到外籍或其他民族的献血者、用血者的概率已大大提高,通过该研究了解了广西地区壮族人群 Kell 红细胞血型系统呈单态性分布,这对确保临床输血安全将起到重要作用。另外通过本研究,所获得的广西地区壮族人群 Kell 血型中 K、k 抗原及 Jsa、Jsb 抗原的基因频率,在一定程度上丰富了本地区壮族人群红细胞血型系统的群体遗传学资料,也可作为中华红细胞稀有血型库建设的依据。

参考文献

[1] Arnoni CP, Muniz JG, De Paula TA, et al. An easy and efficient strategy for KEL genotyping in a multiethnic pop-

ulation[J]. Rev Bras Hematol Hemoter, 2013, 35(2): 99-102.

- [2] 杜若甫. 中国人群体遗传学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 125-130.
- [3] 梁庭望. 中国壮族[M]. 银川: 宁夏人民出版社, 2012: 13-15.
- [4] 张嵘, 田力, 李晓娟, 等. 西藏藏族人群多个红细胞血型系统基因多态性研究[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(5): 505-507.
- [5] 洪纓, 巩天祥, 周昌华, 等. 成都地区献血人群 Kell 等 9 个血型系统抗原基因分型研究[J]. 中国输血杂志, 2012, 25(8): 763-766.
- [6] 贾嫔. 高海拔地区四民族 Kell 系统血型分布[J]. 临床检验杂志, 2005, 32(1): 56.
- [7] Flôres MA, Visentainer JE, Guelsin GA, et al. Rh, Kell, duffy, Kidd and diego blood group system polymorphism in Brazilian Japanese descendants [J]. Transfus Apher Sci, 2014, 50(1): 123-128.
- [8] Kahar MA, Patel RD. Phenotype frequencies of blood group systems (Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNS, P, Lewis, and Lutheran) in blood donors of South Gujarat, India [J]. Asian J Transfus Sci, 2014, 8(1): 51-55.
- [9] Meyer S, Vollmert C, Trost N, et al. High-throughput Kell, Kidd, and Duffy matrix-assisted laser desorption/ionization, time-of-flight mass spectrometry-based blood group genotyping of 4000 donors shows close to full concordance with serotyping and detects new alleles [J]. Transfusion, 2014, 54(12): 3198-3207.
- [10] Roychoudhury AK, Nei M. Human polymorphic genes world distribution [M]. New York: oxford university press, 1988.
- [11] Yung C H, Chow MP, Hu HY, et al. Blood group phenotype in Taiwan. Transfusion, 1989, 29: 233-235
- [12] 郝露萍, 张志, 永尾畅夫, 等. 北京地区人群中 6 种红细胞抗原的调查[J]. 中华血液学杂志, 1986, 7(2): 68-69.
- [13] 杰夫·丹尼尔, 主编. 人类血型(中文翻译版, 第二版) [M]. 北京: 科学出版社, 2007: 352-362.
- [14] Karagol BS, Zenciroglu A, Okumus NA, et al. Hemolytic disease of the newborn caused by irregular blood subgroup (Kell, C, c, E, and e) incompatibilities: report of 106 cases at a Tertiary-Care centre [J]. Am J Perinatol, 2012, 29(6): 449-454.
- [15] Rath M, Smits-Wintjens V, Lindenburg I, et al. Exchange transfusions and top-up transfusions in neonates with Kell haemolytic disease compared to Rh D haemolytic disease [J]. Vox Sang, 2011, 100(3): 312-316.
- [16] 郝露萍, 张志, 永尾畅夫, 等. 一例稀有的 K0 红细胞表现型[J]. 中华血液学杂志, 1984, 5(5): 300-302.
- [17] 王晨. Kell 血型中罕见 K₀ 表型 1 例 [J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(9): 167.

(收稿日期: 2016-02-11 修回日期: 2016-04-06)