

论著·临床研究

湖南省岳阳地区无偿献血人群 Mur 血型
抗原基因检测及抗体筛查苏湘晖,周砺宏,向雅香,谭 涛
(岳阳市中心血站,湖南 岳阳 414000)

[摘要] 目的 了解湖南省岳阳地区无偿献血人群 Mur 血型抗原分布频率及抗-Mur 发生的概率,为临床输血安全提供保障。方法 选取 2023 年 1—6 月该站无偿献血者标本 4 660 人份,其中用聚合酶链反应-序列特异性引物检测 Mur 抗原标本 437 人份,用血清学方法检测抗-Mur 标本 4 223 份,有凝集反应的标本再进行红细胞抗体鉴定并测定效价;对 2 例 Mur 抗原进行基因测序。结果 4 660 人份献血者标本 Mur 抗原分布频率为 3.66%(16/437),抗-Mur 发生率为 0.17%(7/4 223),抗体类型均为免疫球蛋白 M 型;Mur 抗原基因测序结果均符合国际输血协会 Mur 抗原分型。结论 湖南省岳阳地区献血人群 Mur 抗原和抗-Mur 分布均有一定的频率,为确保临床输血安全和提高新生儿溶血病的实验诊断,不规则抗体检测试剂中应增加 Mur 抗原红细胞,可使用分子生物诊断试剂检测 Mur 抗原,为保障临床输血安全,必要时建立稀有血型库。

[关键词] Mur 抗原; 抗-Mur; 基因; 供血者; 普查; 湖南

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2024.23.011

中图法分类号:R193.3;R446.6

文章编号:1009-5519(2024)23-4023-03

文献标识码:A

**Mur blood group antigen gene testing and antibody screening among
voluntary blood donors in Yueyang, Hunan Province**SU Xianghui, ZHOU Lihong, XIANG Yaxiang, TAN Tao
(Yueyang Central Blood Station, Yueyang, Hunan 414000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the distribution frequency of Mur blood group antigens and the incidence of anti-Mur among voluntary blood donors in Yueyang area of Hunan Province, so as to provide guarantee for the safety of clinical blood transfusion. **Methods** A total of 4 660 voluntary blood donors in this station were selected from January to June 2023. Among them, 437 samples were tested for Mur antigen by polymerase chain reaction-sequence specific primers, and 4 223 samples were tested for anti-Mur by serological method. The samples with agglutination reaction were identified by red blood cell antibody and the titer was determined. Mur antigen gene sequencing was performed in two cases. **Results** The distribution frequency of Mur antigen was 3.66%(16/437), the incidence of anti-Mur was 0.17%(7/4 223) in 4 660 blood donors, and the antibody type was immunoglobulin M type. The sequencing results of the Mur antigen gene were consistent with Mur antigen of the International Society of Blood Transfusion. **Conclusion** The distribution of Mur antigen and anti-Mur in blood donors in Yueyang, Hunan Province has a certain frequency. In order to ensure the safety of clinical blood transfusion and improve the experimental diagnosis of hemolytic disease of newborn, Mur antigen red blood cells should be added, which can be detected by molecular biological diagnostic reagents. In order to ensure the safety of clinical blood transfusion, rare blood group library should be established when necessary.

[Key words] Mur antigen; Anti-Mur; Genes; Blood donors; Census; Hunan

Mur 抗原是 MNS 血型系统 Miltenberger 亚系列中的一种抗原,被国际输血协会命名为 MNS10^[1]。Mur 抗原是一种由血型糖蛋白 A(GPA)、GPB 基因杂交在红细胞上被表达,其分布具有独特的特点^[2-3]。抗-Mur 可导致新生儿溶血病、溶血性输血反应等相关疾病^[4-6],是临床重要的同种抗体之一,越来越受到国内临床输血界的重视^[7]。了解湖南省岳阳地区

Mur 血型分布频率、特点及抗-Mur 发生的概率,对输血安全性及产前血型免疫检查具有重要意义。

1 资料与方法**1.1 资料**

1.1.1 研究对象 选取 2023 年 1—6 月本站无偿献血者标本 4 660 人份作为研究对象,其中男 2 838 人份,女 1 822 人份;年龄 18~55 岁。用聚合酶链反应-

序列特异性引物(PCR-SSP)检测 Mur 抗原标本 437 人份,用血清学检测抗-Mur 标本 4 223 份。提取 2 份 PCR-SSP 方法检测出 Mur 抗原的标本进行基因测序。

1.1.2 仪器和试剂 DNA 提取试剂(天津天隆科技有限公司),Mur 基因检测试剂(天津基诺普泰生物技术公司),测序试剂(西安浩瑞基因技术公司),谱细胞(上海血液生物医药公司),DNA 自动提取仪(天津天隆科技有限公司),PCR 扩增仪(ABI9700,美国 AB 公司),凝胶成像系统(Gel Doc XR+,美国 Bio-Rad 公司),测序平台(PacBio Sequel II/IIe,美国 PacBio 公司),细胞洗涤离心机(日本久保田公司)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 标本均为 EDTA-K2 抗凝,采集 3 d 内完成检测。按试剂说明书提取全血中 DNA,质量浓度为 50~100 μmol/L, A₂₆₀/A₂₈₀ 为 1.5~2.0。

1.2.2 PCR 扩增及电泳 PCR-SSP 按试剂说明书操作。扩增条件为 96 °C 2 min, 96 °C 20 s, 68 °C 60 s, 5 个循环; 96 °C 20 s, 65 °C 45 s, 72 °C 30 s, 10 个循环; 96 °C 20 s, 65 °C 45 s, 72 °C 30 s, 15 个循环; 72 °C 2 min, 4 °C 保存。所获得的 PCR 产物采用 2.5% 琼脂糖凝胶, 140~150 V 电泳 10~15 min, 自动凝胶成像系统仪记录结果。

1.2.3 血清学检测抗体 将 PCR-SSP 检测到的 O 型 Mur 抗原红细胞用生理盐水洗涤 3 次, 配置成 3%~5% 红细胞悬液; 用试管法检测血浆中的抗-Mur。

1.2.4 抗体鉴定 对与 O 型 Mur 抗原红细胞有凝集反应的标本进行抗体鉴定, 并进行抗体效价的测定。

1.2.5 基因测序 对检测 Mur 抗原阳性的标本采用 PacBio Sequel II/IIe 测序平台进行测序。用一步法构建 3 代测序文库, 其体系包含 4 μL PCR 产物, 5 μmol/L barcoded(标签序列, 美国 IDT 公司), 1 × T4 DNA ligase buffer(Enzymatics), 1 mmol/L ATP(美

国 NEB 公司), 200 μmol/L dNTP(美国 NEB 公司), 2.5 U 的 T4 连接酶(Enzymatics), 0.75 U 的 T4 DNA 聚合酶(Enzymatics), 180 U 的 T4 DNA 连接酶(Enzymatics), 共 10 μL 反应混合物。将反应混合物在 37 °C 下孵育 20 min, 25 °C 培养 15 min, 65 °C 培育 10 min。然后添加核酸外切酶 I 和核酸外切蛋白酶 III 去除失败的连接产物, 并用 0.6 × Ampure PB 珠纯化最终文库。对多个样品测序, 根据等质量将预文库汇集在一起。汇集后用 0.45 × Ampure PB 珠纯化前文库 2 次。通过 Sequel Binding Kit 2.2(美国 PCBO 公司)和 Internal Control Kit 1.0(美国 PCBO 公司)将最终文库与测序酶和引物结合, 最终加载 150 pmol/L DNA 聚合酶复合物, 上机测序。文库会在测序仪器中利用光学设备转换成最初输出文件 Polymerase reads, 然后利用仪器内置软件 SMRT Link 将 Polymerase reads 进行基础过滤后转化成 Reads. bam (Sequel IIe CCS 模式), 即下机文件。之后利用 PacBio 官方软件 CCS 进行 HiHi Data 转换, 然后按文库是否含有 Barcode 进行拆分及初级质控, 之后依次进行回贴、查找变异、聚类、分型、结果的单倍体验证, 测序服务委托西安浩瑞技术有限公司完成。根据有无 PCR 产物及产物长度观察有无特异性条带, Mur1、Mur2 同时出现阳性条带判定为 Mur 抗原阳性, Mur1、Mur2 均未出现阳性条带或出现 1 个阳性条带判定为 Mur 抗原阴性。

2 结 果

2.1 Mur 抗原检测情况 4 660 人份献血者标本 Mur 抗原分布频率为 3.66%(16/437)。

2.2 抗-Mur 检测情况 抗-Mur 发生率为 0.17%(7/4 223), 均为免疫球蛋白 M(IgM)型。抗-Mur 效价测定最高效价为 1 : 32, 最低为 1 : 2。

2.3 Mur 抗原测序情况 2 个样本 GYPB 基因均存在 GYP(B1-136-B137-204-A205-229-B230-366), 最核心是 c. 136+793T>G, 表达 Mur 抗原的特异性, 符合国际输血协会 Mur 抗原分型。见图 1。

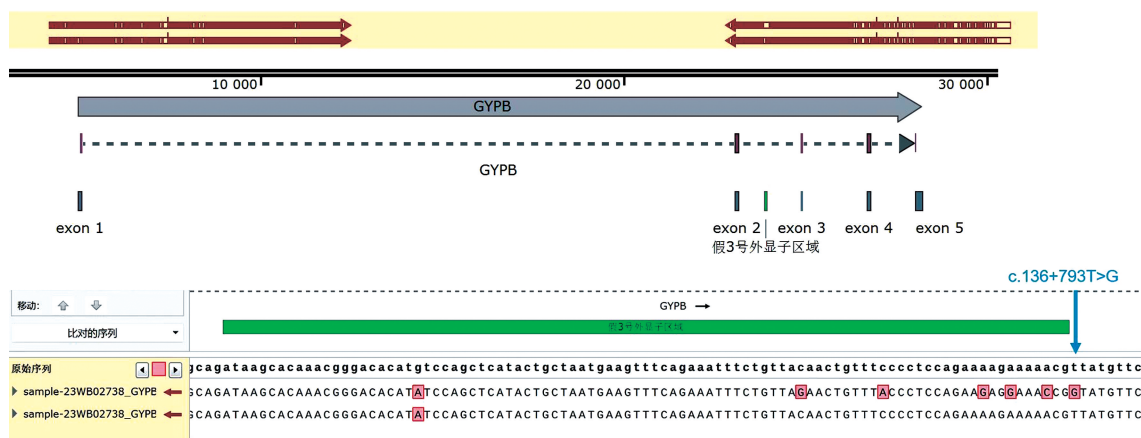


图 1 Mur 抗原测序情况

3 讨 论

Mur 抗原在白种人中较少见,属极低频抗原,但在亚洲,特别是东南亚人群中具有较高的分布频率,泰国人群 Mur 抗原频率为 9.7%^[8]。Mur 血型在我国各地区人群分布频率也有很大的差异,台湾地区分布频率为 7.3%,在台湾地区阿美山人群中高达 88.0%^[9],香港地区分布频率为 6.3%^[10],安徽地区汉族人群分布频率为 0.9%^[11],广州地区献血人群分布频率为 6.6%^[12],海南黎族人群分布频率为 57.7%^[13]。本研究结果显示,湖南省岳阳地区 Mur 抗原分布频率为 3.66%,低于我国南方地区,与孙爱农等^[2]研究结果一致。

MNS 血型抗原是由于 GPA、GPB 的基因 GYP A、GYP B 是同源染色体,2 个基因同处于 4 号染色体长臂上,位置相近,具有较高的同源性,容易发生同源重组现象,GYP A 的外显子 3 有功能且表达;而 GYP B 的外显子 3(假外显子)由于在受体剪接位点存在 1 个点突变而不表达。减数分裂时可能发生基因重排,有缺陷的剪接位点可能被“修复”,导致新的 GP 表达。高度同源的 GYP A、GYP B 发生基因重组即基因转换,不对等交换或点突变所致,可产生 2 种新的单倍体^[14-15]。其中 1 条单倍体可能形成 GYP(A-B) 杂交基因;另一条单倍体则可形成 GYP(B-A)。基因转换能引起 GYP A 基因中的部分插入核苷酸 GYP B 中,也会出现 GYP B 基因中的一部分插入核苷酸 GYP A 中。因此,有些个体的 2 条单倍体会出现 1 条为 GYP(B-A-B);另一条为 GYP A,反之一样^[16]。Mur 血型基因是因 GYP A、GYP B 基因染色体[GYP(B-A-B)]而导致本不应该表达的 GPB 假外显子 3 表达后所产生,本研究中 2 例 Mur 抗原测序结果符合该规则。

Mur 抗原可通过输血、妊娠、移植等刺激机体产生抗-Mur,是常见的同种不规则抗体,该抗体有 IgG 型、IgM 型或 IgG 型+IgM 型,IgM 型多于 IgG 型,盐水法反应强度强于间接抗人球蛋白实验^[17],本研究中抗-Mur 均为 IgM 型,可能与本研究对象均为健康献血者有关。在香港地区孕妇和患者中抗-Mur 出现频率为 0.46 和 0.34%^[18],广州番禺地区抗-Mur 频率为 0.21%^[19],上海地区抗-Mur 频率为 0.11%^[20]。抗-Mur 可导致溶血性输血反应或胎儿水肿,甚至发生严重的新生儿溶血病。但目前用于不规则抗体检测所使用的 3 个筛选红细胞中一般不含 Mur 抗原红细胞,为提高抗-Mur 检出率,应在抗体检测试剂中增加含 Mur 抗原的红细胞。因此,检测 Mur 血型抗原可了解人群的分布频率并建立稀有血型库,而抗-Mur 的鉴定可为患者提供相配合的血液,指导临床输血^[21],还可为新生儿溶血病的诊断提供实验依据^[5],均具有非常重要的意义。在目前商品化抗-Mur 试剂短缺的情况下,随着分子生物技术不断发展,对 Mur

血型的检测、研究和应用可发挥重要作用。

参考文献

- [1] 杰夫·丹尼尔,主编,朱自严,主译.人类血型[M].北京:科学出版社,2007:117-160.
- [2] 孙爱农,段生宝,易峰,等. Mur 血型抗原抗体调查及应用研究[J]. 中国输血杂志,2017,30(6):586-589.
- [3] 周娟,刘忠. Miltenberger 血型系统的研究进展[J]. 中国输血杂志,2013,26(12):1294-1296.
- [4] 蒋群芳,秦瑛键,张崇林,等. Mur 血型系统的最新研究进展[J]. 检验医学与临床,2019,16(17):2572-2575.
- [5] 郑艳玲,洪强. 抗-Mur 在闽南地区人群分布频率及其导致新生儿溶血病的临床研究[J]. 中国实验血液学杂志,2022,30(6):1824-1828.
- [6] 王红,吴大洲,张薇薇,等. Mur 基因分型方法的建立及西安地区无偿献血者的频率分布[J]. 中国输血杂志,2018,31(4):374-376.
- [7] 刘丽丽. 抗体筛查漏检抗-Mur 致交叉配血不合两例报告[J]. 北京医学,2022,44(4):358-362.
- [8] CHANDANYINGYONG D, PEJRACHANDRA S. Studies on the miltenberger complex frequency in Thailand and family studies[J]. Vox Sang,1975,28(2):152-155.
- [9] BROADBERRY R E, LIN M. The distribution of the Mi III (Gp. Mur) phenotype among the population of Taiwan[J]. Transfus Med,1996,6(2):145-148.
- [10] POOLE J, KING M J, MAK K H, et al. The mi III phenotype among Chinese donors in Hongkong: Immunochemical and serological studies[J]. Transfus Med,1991,1(3):169-175.
- [11] 周娟,吕蓉,朱帮强,等. 安徽省汉族人群 Miltenberger 血型调查分析[J]. 安徽医科大学学报,2014,49(3):313-315.
- [12] 魏玲,姬艳丽,莫春妍,等. 广州地区无偿献血者抗-Mur 筛查及 Mur 抗原基因型检测[J]. 南方医科大学学报,2012,32(12):1833-1835.
- [13] 符小玲,蔡兴权,赵兴丹,等. 海南黎族人群 MNS 和 Mur 血型系统基因频率分布及与其他民族人群比较[J]. 中国公共卫生,2022,38(6):775-778.
- [14] HSU K, CHI N, GUCEK M, et al. Miltenberger blood group antigen type III (Mi. III) enhances the expression of band 3[J]. Blood,2003,114(9):1919-1928.
- [15] HSU K, LIN Y C, CHANG Y C, et al. A direct blood polymerase chain reaction(下转第 4030 页)

- sis[J]. *Sports Health*, 2023, 15(1): 86-96.
- [5] ARIMA S, MAEDA N, ODA S, et al. Acute effects of selective strength exercise on the peroneus longus and brevis[J]. *J Sports Sci Med*, 2023, 22(3): 397-405.
- [6] 谢财忠, 刘真真, 史梦琳, 等. 威伐光联合调制中频电疗治疗肩袖损伤的临床疗效[J]. *中国疗养医学*, 2024, 33(1): 54-57.
- [7] 王娟娟, 范素贞, 梁豪. 超声引导下肩胛背神经阻滞联合全身麻醉在肩胛骨骨折手术中的应用研究[J]. *现代医药卫生*, 2020, 36(16): 2518-2520.
- [8] COHEN M, FONSECA R, GALVÃO AMARAL M V, et al. Treatment of chronic locked posterior dislocation of the shoulder with the modified McLaughlin procedure[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2022, 31(1): 100-106.
- [9] FITZPATRICK L A, ATINGA A G A, WHITE L, et al. Rotator cuff injury and repair[J]. *Semin Musculoskelet Radiol*, 2022, 26(5): 585-596.
- [10] RODRIGUEZ H C, RUST B, HANSEN P Y, et al. Artificial intelligence and machine learning in rotator cuff tears[J]. *Sports Med Arthrosc Rev*, 2023, 31(3): 67-72.
- [11] 王跃华, 周凯, 陈锋, 等. 关节镜下锚钉固定治疗肩关节 Bankart 损伤临床疗效观察[J]. *现代医药卫生*, 2017, 33(15): 2331-2333.
- [12] 黄淑明, 郑荣宗. 肩峰下滑囊在肩袖疾病中的作用研究进展[J]. *中华实验外科杂志*, 2018, 35(2): 382-384.
- [13] HERMAN J, LE GOFF B, DE LIMA J L N, et al. Pro-inflammatory effects of human apatite crystals extracted from patients suffering from calcific tendinopathy[J]. *Arthritis Res Ther*, 2021, 23(1): 131.
- [14] 单帅, 姚小强, 郑先丽, 等. 肩峰下滑囊在肩袖损伤中的作用研究进展[J]. *甘肃医药*, 2023, 42(4): 304-306.
- [15] 解波, 黎已莲, 张秀平, 等. 肩胛上神经阻滞与肩峰下滑囊注射对于肩袖撕裂患者的短期疗效分析[J]. *成都医学院学报*, 2020, 15(1): 109-111.
- [16] 李安安, 陈嘉韵, 陈锦, 等. 关节镜联合玻璃酸钠治疗膝骨关节炎效果的 Meta 分析[J]. *中国组织工程研究*, 2021, 25(15): 2437-2444.
- [17] 成雪晴, 卢漫, 贺凡丁, 等. 超声引导下复方倍他米松联合玻璃酸钠注射治疗肩峰下滑囊炎的临床研究[J/CD]. *中华医学超声杂志(电子版)*, 2015(6): 488-492.
- [18] ISHIKAWA H, SMITH K M, WHEELWRIGHT J C, et al. Rotator cuff muscle imbalance associates with shoulder instability direction[J]. *J Shoulder Elbow Surg*, 2023, 32(1): 33-40.
- [19] STOJANOVIĆ M D M, MIKIĆ M J, MILOŠEVIĆ Z, et al. Effects of chair-based, low-load elastic band resistance training on functional fitness and metabolic biomarkers in older women[J]. *J Sports Sci Med*, 2021, 20(1): 133-141.
- [20] 王京华, 江雨桐, 胡德洪. Thera-Band 弹力带主动运动疗法联合滑囊内注射曲安奈德对肩峰-三角肌下滑囊病变患者肩关节活动度的影响[J]. *反射疗法与康复医学*, 2021, 2(23): 142-144.
- [21] PARK Y J, NA S J, KIM M K. Effect of progressive resistance exercise using theraband on edema volume, upper limb function, and quality of life in patients with breast cancer-related lymphedema[J]. *J Exerc Rehabil*, 2023, 19(2): 105-113.

(收稿日期: 2024-05-07 修回日期: 2024-08-21)

(上接第 4025 页)

- approach for the determination of GP. Mur (Mi. III) and other Hil+ miltenberger glycoporphin variants[J]. *Transfusion*, 2013, 53(5): 962-971.
- [16] 孙爱农, 孙雯婷, 李勇. Miltenberger 血型系列和 Mur(MNS10) 血型抗原及其临床意义[J]. *中国输血杂志*, 2010, 23(5): 403-406.
- [17] 王颖, 刘长利, 苗天红. Miltenberger 血型系列和 Mia, Mur 抗原[J]. *中国输血杂志*, 2013, 26(3): 192-194.
- [18] 夏琳, 姜悦. 临床输血医学检验[M]. 武汉: 华中科技大学出版社, 2014: 42-44.
- [19] 邓诗楨, 严康峰, 谢敬文. 番禺地区 Mur 抗原与抗-Mur 频率调查[J]. *中国输血杂志*, 2010, 23(3): 218.
- [20] 陈瑞明, 顾晓菁, 熊立凡, 等. 上海市无偿献血者 Miltenberger 抗体频率的调查[J]. *中国输血杂志*, 2000, 13(4): 267-268.
- [21] 虞茜, 杨红梅. 多次输血漏检抗-Mur 致抗-Ce 配血不合分析[J]. *检验医学与临床*, 2023, 20(9): 1337-1340.

(收稿日期: 2024-06-14 修回日期: 2024-08-30)