

- [8] Sathyamangla V, Prasad N, Esposito G, *et al.* G $\beta$  $\gamma$ -dependent phosphoinositide 3-kinase activation in hearts with *in vivo* pressure overload hypertrophy [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(7): 4693.
- [9] Colombo F, Noel J, Mayers P, *et al.*  $\beta$ -Adrenergic stimulation of rat cardiac fibroblasts promotes protein synthesis via the activation of phosphatidylinositol 3-kinase [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2001, 33(6): 1091.
- [10] Luttrell L M, Hawes B E, Lefkowitz R J, *et al.* Role of c-Src tyrosine kinase in G-protein-coupled receptor and G Subunit-mediated activation of mitogen-activated protein kinases [J]. *J Biol Chem*, 1996, 271(32): 19443.
- [11] Pomerance M, Hannah-Belle A, Kamerji S, *et al.* Thyroid-stimulating hormone and cyclic AMP activate p38 mitogen-activated protein kinase cascade [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(5): 40539.
- [12] Singh K, Communal C, Sawyer D B, *et al.* Adrenergic regulation of myocardial apoptosis [J]. *Cardiovascular Res*, 2000, 45(3): 713.
- [13] Krown K A, Page M T, Nguyen C, *et al.* Tumor necrosis factor  $\alpha$  induced apoptosis in cardiac myocytes: involvement of the sphingolipid signaling cascade in cardiac cell death [J]. *J Clin Invest*, 1996, 98(12): 2854.
- [14] Behr T M, Nerurkar S S, Nelsen H, *et al.* Hypertensive end-organ damage and premature mortality are p38 mitogen-activated protein kinase dependent in a rat model of cardiac hypertrophy and dysfunction [J]. *Circulation*, 2001, 104(11): 1292.
- [15] Ma X L, Kumar S, Gao F, *et al.* Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase decrease cardiomyocyte apoptosis and improves cardiac function after myocardial ischemia and reperfusion [J]. *Circulation*, 1999, 99(13): 1685.
- [16] Lorell B H. Transition from hypertrophy to failure [J]. *Circulation*, 1997, 96(11): 3824.

(编辑 张敏瑞)

## Rh 抗原分子研究进展

赵 阳, 肖露露

(广州血液中心血型研究室, 广东 广州 510095)

关键词: Rh 血型; 多态性

中图分类号: R722.18

文献标识码: A

文章编号: 1000-257X(2002)5S-0157-02

Rh 血型在 60 年前被首次提出, 现已证明至少有 45 个独立的等位基因, 在人类血型系统中最富有多态性, 是 ABO 血型之后最有临床输血意义的血型系统。自从认识 Rhd-NA (Rh 互补 DNA) 以来, 已开展了大量的工作去揭示隐藏在 Rh 系统抗原下的分子基础。通过克隆 cDNA 和对 Rh 蛋白的编码基因测序, 已对相关 Rh 抗原分子基础有了初步的了解。目前已知主要临床相关 Rh 抗原改变的基因机制包括基因缺失 (D 阴性表型), 基因互换 (C/c 多态性), 对位错义突变 (E/e), 其它错义突变 (VS 和 V)<sup>[1]</sup>。Rh 基因表现出庞大的分支, 不同的基因又在不同种族重组。本文从 Rh 抗原分子结构, 表型多态性与临床意义两方面简述之。

### 1 分子结构

D 的多样性可能比想象更普遍, 单克隆抗 D 与不同 Rh 基因人群红细胞反应又可有相同的格局。1 个例子是杂交基因编码的 D<sup>III</sup> 表型, 最近证实存在于纽约市的 18% 黑人和 28% 来自巴西的黑人<sup>[2]</sup>。D 存在时对 C 基因分型是困难的, 因为 RHC (E/e) 和 RHD 都在 1, 2 号外显子有鉴定序列, RHC 定型可能要通过揭示 RHCE 2 号内含子的多态性来完成, 它包括 RHC (E/e) 内的 109 对插入的 DNA, 但 Rhd (E/e) 或 RHD 内没有这种插入<sup>[3, 4]</sup>。目前所有的分子基因分型技术都可能对非洲黑人和亚洲人 D 阴性和携带无功能阴性 RHD 基因者误判为 D 阴性, 但少见于白种人<sup>[5]</sup>。人群中常见的不表达 RHD 基因限制了分子基因分型技术的临床应

用。2 个表达 dCe 表型的白人, 1 个的 RHD 基因 1 号外显子有一终止密码, 另 1 个在 4 号外显子缺失 4 个氨基酸<sup>[5]</sup>。对非洲人祖先的 RHD 主要沉默等位基因 (RHD<sup>ψ</sup>) 的分子基础测定中发现 DNA 有 37 对碱基, 是内含子 3/ 外显子 4 边缘的复制品, 在外显子 5 有一错义突变; 在外显子 6 有无义和错义突变<sup>[6]</sup>。D<sub>a</sub> 表型 (D 抗原可被吸收放散试验去除) 缺失 RHD, 包括内含子 8 外显子 9, 内含子 9 共 1013 个碱基对的缺失<sup>[7]</sup>。

特异性多克隆抗 D 与未知红细胞反应可鉴定部分 D 抗原表型, 同样可以通过已知部分 D 抗原表型的红细胞测定患者的抗 D 抗体。针对不同抗原决定簇的人类单克隆抗体现在可用来区分部分 D 抗原, 从早期模型 8~9 个到今天的 16, 30, 37 个 D 决定簇 (epD)<sup>[8]</sup>。影响 Rh 多态表现型基因机制至少有 4 种: ①重排, 发生在 RHCE 和/或 RHD 之间。②点突变, 引起任一氨基酸改变, 某些决定簇序列和/或低频抗原的丢失。③无义突变。④移码突变, 产生移码和成熟前终止密码。有证据显示 Rh 基因上存在 Alu IV 的重组热点<sup>[9]</sup>。缺失 D 决定簇可产生部分 D 抗原表型, 但缺失 1 个 D 决定簇不一定总会直接改变表型, 被顺式和反式基因编码的 Rh 蛋白也会影响单克隆抗 D。例如, R<sub>0</sub><sup>H<sub>0</sub></sup> 和 D<sup>V<sub>a</sub></sup> 一般不含有任何 RHD 外显子, 对单克隆抗 D 有交叉反应, 造成血清学鉴定 D 困难。因 1 个氨基酸置换或新的嵌合型蛋白的生成, 将影响 D 蛋白与单克隆抗 D 的接合。涉及连接单克隆抗 D 的某些蛋白已通过定点诱变技术 (SDM) 筛查, 显示 3 个 D 特异

收稿日期: 2002-07-03

作者简介: 赵 阳 (1972-), 男, 河南许昌人, 学士, 主管技师。

©1994-2018 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

性氨基酸(Asp350, Gly353, Ala354)协同插入 RHCE 结构中,产生表达  $epD_3$  和  $epD_9$ 。9 个外表面 D 残余物协同作用产生的决定簇可被 50 种单克隆抗 D 中的 40 个识别,显示了某些 D 决定簇的空间独特性,更准确的测定抗原抗体作用的位点依赖结晶学的资料。

D 抗原: D 抗原遍布整个 RHD 蛋白,是构造依赖性决定簇的集合体。大多数 D 阴性白人缺失 RHD,其它人群(特别是日本人和非洲黑种人)D 阴性表型与非正常 RHD 有关。编码弱 D 表型(以前认为是  $D^w$ )的基因分析显示有正常的 RHD 序列,但是 RHD mRNA 严重减弱,转录水平或 mRNA 前程序有缺陷<sup>[10]</sup>。近来研究还发现,在 RHD 跨膜区或胞质区内表达弱 D 抗原的转录有错义突变,红细胞不被所有单克隆抗 D 凝集,而且有这种弱 D 表达的人不会产生抗  $D^I$ <sup>[11]</sup>。

CcEe 抗原: RhC/c 和 RhE/e 多态性是由 RHCE 核苷酸置换决定。6 个核苷酸发生置换可产生 4 个氨基酸改变(Cys16Trp, Ile60Leu, Ser68Asn, Ser103Pro),仅 Ser103Pro 多态性与 C/c 抗原性强相关<sup>[12]</sup>。其中脯氨酸 Pro102 是 c 抗原重要成分,相邻的 2 个脯氨酸可形成相对稳定结构,阻止邻近氨基酸改变,因此相对其他 Rh 抗原而言其表型变化较少。1 个核苷酸的置换足以表达  $E \rightarrow e$  的多态性(Pro226Ala)。已发现众多影响 e 抗原表达的分子改变,如 245 位氨基酸 Val 代替 Leu, 229 位氨基酸位缺失 Arg<sup>[13]</sup>, 16 位氨基酸 Cys 代替 Trp<sup>[14]</sup>,但 e 抗原具体表达方式仍未完全清楚。

Vs 和 V 抗原:跨膜区内部 1 个氨基酸置换(Leu245Val)同时产生了 2 个低频抗原(Vs 和 V)<sup>[15]</sup>,在 336 位其它的跨膜氨基酸置换(Gly $\rightarrow$ Cys)时 V 抗原(表现为 VS)不表达<sup>[16]</sup>。膜上 245 和 336 位氨基酸置换的不同结果说明非膜外氨基酸严重影响 Rh 抗原表达,提示某些 Rh 决定簇的表达不仅仅依赖于膜外位点。

G 抗原: RHD 和 RHC 蛋白携带 G 抗原,与第 2 外显子编码的第 2 细胞外区相关<sup>[17]</sup>。在  $D^{VI}cE(D^{VI}I)$  型红细胞上 RHD(外显子 1~3)、RHCE(外显子 4、5)和 RHD(外显子 6~10)蛋白, G 抗原不能被 1 或 2 种单克隆抗-G 检出。推测 G 抗原可能是构造依赖性的,并不依赖 RHC(e/E)或 RHD 蛋白第 2 细胞外区。

与部分 D(Partial D)抗原相关的低频抗原:源自红细胞表面的异常结构,是部分 D 抗原测定的有用标记物。许多低频抗原的产生不止有 1 个分子背景改变,如 FPTT(RHAG)抗原在表型为 DFR、 $R_0^{Har}$ 和  $D^{IVa}(C)$ 的红细胞上表达, Rh32 抗原在 DBT 和  $R^N$  红细胞表达, Evans 抗原表达为  $D^+$ ,弱型 Evans 出现在  $D^{Ib}$  红细胞上,表达为 Rh23 或 Rh32 的红细胞拥有 2 种表型的抗原(Rh23/32)<sup>[18]</sup>。这些例子说明改变的蛋白外部表面存在抗原类似物。

与  $D^-$ 和  $D^+$ 有关的重排 RHCE 基因,减弱了 C、c、E、e 表达,增强 D 抗原表达,红细胞在盐水中被 IgG 抗-D 凝集,已知因为 RHD 基因很大程度地插入 RHCE 基因。在  $DC^w$ -和  $Dc$ 表现型,编码 E/e 抗原的 RHCE 基因被 1 个同样丢失 E/e 抗原的 RHD 代替,即 RHCE 缺失型是在蛋白质水平出现了重排的 RHCE 基因编码,变成 RHCE 缺失的蛋白。

## 2 多态性与临床

同种抗体: Rh 同种抗体可破坏输注的红细胞和 HDN 中胎儿红细胞。罕见的 Rh 缺失型( $Rh_{null}$ ,  $D^-$ )可能产生抗体。 $Rh_{null}$ 表型可产生抗所有 Rh 抗原,抗 Rh17(抗 RhC/e 蛋白),抗 D, 抗 C 或混合特异性抗体。输注给含抗 Rh29 抗体的病人很困难,因为只和  $Rh_{null}$ 红细胞相合。 $Rh_{null}$ 表型人不仅罕有,而且本身有代偿性溶血性贫血,也不符合献血标准。有  $D^-$ ,  $Dc^w$ ,  $Dc$ -表型的人可产生抗 Rh17。有 Rh17 抗体的病人也只有与表型缺失的红细胞相配。

自身抗体: AIHA 病人血浆中暖自身抗体也许与  $Rh_{null}$ 和  $D^-$ 红细胞(含自身抗 Rh17)不反应,或仅与  $Rh_{null}$ 红细胞(含自身抗 Rh29)不反应,这种情况下得不到抗原阴性的血液而病人有危及生命的贫血时可输注抗原阳性红细胞。检查和鉴定抗体是为了避免输血反应。

部分和弱 D 表型:红细胞上有 D 表型量的改变不会产生抗 D,而有部分 D 表型质的改变(有/没有弱 D 抗原)可产生同种抗 D。患者和供者选择原则是不一样的,供者缺失弱 D 或部分 D 抗原,输给 D 阴性病人可排除产生免疫的可能性,弱表达 D 抗原大部分无免疫性。

Rh HDN: D 抗原引起大约 50% 的母亲同种免疫,剩下的是主要由不相合的 K、c、C/G、E、 $Fy^a$  抗原和 Rh、MNS、Diego 系统中的低频抗原引起<sup>[19]</sup>。 $R_2$  单倍型(14 000 到 ~16 000 位点)比  $R_1$  单倍型(9 000~14 600 位点)多,因此  $R_2$  型胎儿比  $R_1$  贫血更严重,这也是男性胎儿比女性胎儿有更严重 HDN 的原因<sup>[20]</sup>。阻止母体抗 D 产生免疫应答机制是预防性 Rh 免疫球蛋白注射,它也许(至少部分)在脾免疫应答之前阻断了抗原抗体反应。在一些情况下,生出 D 阳性婴儿的部分 D 表型母亲(如  $D^{VI}$ 和 DBT 表型)建议输注。在欧洲,故意选择可将  $D^{VI}$ 表型母亲鉴定为 D 阴性的抗 D 试剂,保证这样的母亲怀孕时会自动接受预防性 Rh 免疫球蛋白治疗。

RH 和其它疾病:  $Rh_{null}$ 病人的红细胞缺乏 Rh 蛋白,同一宗族发病,  $Rh_{null}$ 分为不定型和规则型,历史上根据遗传格局分类,其中不定型存在 RHCE 分子缺陷导致 RH 抗原抑制。

综上所述,对 Rh 血型抗原进行大量的分子水平的基础研究,仍未清楚众多 Rh 血型抗原的成分和功能,对它的了解几乎全来自外围证据。Rh 分子基因机制和多态性的研究对临床的诊治指导越来越显著,对 Rh 蛋白血清学,分子学,蛋白质决定簇谱晶体结构的深入研究方兴未艾。

### 参考文献:

- [1] Huang C H. Molecular insights into the Rh protein family and associated antigens[J]. *Curr Opin Hematol*, 1997, 4(1): 94.
- [2] Rios M, Storry J R, Hue Roye K, *et al*. Incidence of partial D,  $D^{Ib}$  in Black donors as determined by PCR-RFLP analysis[J]. *Transfusion*, 1998, 38(suppl): 63.
- [3] Avent N D, Daniels G L, Martin P G, *et al*. Molecular investigation of the Rh C/c polymorphism[J]. *Transfus Med*, 1997, 7(suppl 1): 18.

(下转第 164 页)

本文调查结果抗感染药物使用率为 44.75%，结果与文献报道相比偏低<sup>[1]</sup>，其原因可能是未包含住院病人，文献多数是整个医院而本文只单纯门诊病人。但抗感染药仍然是该门诊用药的一大类，造成抗感染药物应用较多的原因有：①感染性疾病发生率上升，每年 3~5 月是儿童呼吸道和肠道感染的旺季，故用于抗感染和预防感染用药增多；②做病原菌培养和药敏试验比例很低，临床医生多数凭经验用药，有时为使病人尽快恢复，多采取联合用药，这也使抗感染药物的应用增多；③有少数医生受社会不良风气影响，为追求个人私利，滥用抗感染药物；④病原菌耐药性增加。针对以上原因，今后我们一定要加强抗感染药物的合理应用，重视病原菌检查及药敏试验，对症治疗，以便取得理想的治疗效果，做到安全、有效、经济地用药。同时坚决抵制一切不良之风，一切以病人为中心。

随着医学模式的转变，人们对药物治疗的评价，越来越

注重自身的感受，如经济承受能力和生命质量方面的改善，因此治疗评价开始逐渐从注重疗效和安全性两方面，转为注重安全、有效、经济等方面。我院惠福西门诊面对的病人多数是一般市民，经济负担能力相对偏低，企业单位已全面实行医保。怎样做到以最小的成本获得最大的治疗效果是当前临床医生和药师的首要任务，药师要在合理用药上当好医师和患者的参谋，必需加强医学基础理论及临床知识的学习，这样才能在实施药学服务方面有所建树。

参考文献：

- [1] 朱才娟, 邓渝林, 樊成辉, 等. 我院 1999 年 9 月至 2000 年 3 月抗菌药物应用状况的调查与分析[J]. 中国药房, 2001, 12(10): 602.

(编辑 刘清海)

(上接第 158 页)

- [4] Avent N D, Martin P G, Armstrong Fisher S S, *et al.* Evidence of genetic diversity underlying Rh D<sup>U</sup> Weak D(D<sup>U</sup>) and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the RHD gene[J]. *Blood*, 1997, 89(6): 2568.
- [5] Daniels G, Green C, Smart E. Differences between RhD-negative Africans and RhD-negative Europeans[J]. *Lancet*, 1997, 350(9081): 862.
- [6] Singleton B K, Green C A, Avent N D, *et al.* An RhD pseudogene containing a 37 bp duplication and a nonsense mutation is present in most Africans with the RH D-negative blood group phenotype[J]. *Blood*, 2000, 95(1): 12.
- [7] Chang J G, Wang J C, Yang T Y, *et al.* Human Rh<sub>D</sub> is caused by a deletion of 1, 013 bp between introns 8 and 9 including exon 9 of RHD gene[J]. *Blood*, 1998, 92(7): 2602.
- [8] Tippett P, Lomas Francis C, Wallace M. The Rh antigen D, partial D antigens and associated low incidence antigens[J]. *Vox Sang*, 1996, 70(3): 123.
- [9] Kemp T J, Poulter M, Carritt B. A recombination hot spot in the Rh genes revealed by analysis of unrelated donors with the rare D-phenotype[J]. *Am J Hum Genet*, 1996, 59(5): 1066.
- [10] Rouillac C, Gane P, Cartron J, *et al.* Molecular basis of the altered antigenic expression of RhD in weak D(D<sup>u</sup>) and RhC/e in R<sup>N</sup> phenotypes[J]. *Blood*, 1995, 87(12): 4853.
- [11] Legler T J, Maas J H, Blaschke V, *et al.* RHD genotyping in weak D phenotypes by multiple polymerase chain reactions[J]. *Transfusion*, 1998, 38(5): 434.
- [12] Avent N D, Daniels G L, Martin P G, *et al.* Molecular investigation of the Rh C/c polymorphism[J]. *Transfus Med*, 1997, 7(suppl 1): 18.
- [13] Huang C H, Reid M E, Chen Y, *et al.* Deletion of Arg229 in RhCE polypeptide alters expression of RhE and CE-associated Rh [J]. *Blood*, 1997, 90(suppl 1): 272.
- [14] Westhoff C M, Silberstein L E, Sipherd B, *et al.* Altered "e" antigen expression associated with <sup>16</sup>Cys in exon 1 of the Rhee gene[J]. *Transfusion*, 1998, 38(suppl): 64.
- [15] Daniels G L, Faas B W, Green C A, *et al.* The VS and V blood group polymorphisms in Africans: a serological and molecular analysis[J]. *Transfusion*, 1998, 38(9): 951.
- [16] Faas B W, Beckers E M, Wildoer P, *et al.* Molecular background of VS and weak C expression in blacks[J]. *Transfusion*, 1997, 37(1): 38.
- [17] Faas B W, Beckers E M, Simsek S, *et al.* Involvement of Ser103 of the Rh polypeptides in epitope formation[J]. *Transfusion*, 1996, 36(4): 506.
- [18] Reid M E, Sausais L, Zaroulis C G, *et al.* Two examples of an inseparable antibody that reacts equally well with D<sup>w</sup>+ and Rh32+ red blood cells[J]. *Vox Sang*, 1998, 75(3): 230.
- [19] Giblett E R. Blood group alloantibodies: an assessment of some laboratory practices[J]. *Transfusion*, 1997, 37(2): 299.
- [20] Ulm B, Svolba G, Ulm M R, *et al.* Male fetuses are particularly affected by maternal alloimmunization to D antigen[J]. *Transfusion*, 1999, 39(2): 169.

(编辑 黄小廷)