

本期导读

秀鹏生物 RHD 血型专刊
2018 年 2 月

1. 《RhD 抗原变异型同种免疫反应研究》	3
2. 《汉族 DEL 型孕妇可免去抗-D 产前检查》	8
3. 《304 例 Rh 阴性孕产妇的 RhD 同种免疫分析》	9
4. 《Rh 阴性孕妇血型 D 抗原同种免疫反应研究》	10
5. 《RhD 阴性孕妇的 RH 基因型及其与抗 D 抗体产生关系的研究》	10
6. 《产生抗-D 的 RhD (-) 孕妇 RHD 基因型分析》	13
7. 《RhD 初筛阴性孕产妇 RHD 基因表型相关研究》	14
8. 《RhD 阴性围产期妇女 RH 基因型及同种免疫研究》	15
9. 《体内含有抗 D 抗体 RhD 阴性妇女的 RHD 基因 Rhesusboxes 及外显子分析》	16
10. 《RhD 阴性个体遗传多态性与抗-D 同种免疫关系研究》	16
11. 《RhD 阴性患者输注 DEL 型血液的安全性研究》	18
12. 《Rh 阴性个体输入 Del 红细胞产生抗-D 免疫的研究》	19
13. 《RhD(-)无偿献血者中 RhD 表型与基因型检测情况分析》	19
14. 《RhD 血型对肾移植影响的初步研究》	20
15. 《DEL 型红细胞输注 RhD 阴性患者抗-D 抗体调查分析》	21
16. 《20 例输注 Del 型红细胞的 RhD 阴性受者的回顾性分析》	23
17. 《52 例 RhD 阴性患者 D 变异型和抗-D 抗体检测分析》	23

18. 《检出免疫性抗体的 RhD 阴性献血者基因型分析》	24
19. 《Rh 弱 D、Del 的检测及意义》	24
20. 《PCR-SSP 基因分型技术在 Rh 血型鉴定中的应用研究》	25
21. 《检测孕妇血浆游离胎儿 DNA 预测胎儿 RhD 基因型的研究》	25
22. 《中国人Rh血型D抗原数量的调查》	26
23. 《血液抗-D 抗体检测在 RhD 阴性患者输注 RhD 阳性同型红细胞中的效果分析》	26
24. 《117 名 RhD 阴性个体 RHD 基因序列分析》	27
25. 《福建省RhD阴性个体RHD基因多态性》	27
26. 《海南汉族 RhD 阴性个体 RHD 基因研究》	28
27. 《湖北汉族 RhD 阴性个体 Rh 表型及 RHD 基因多态性研究》	28
28. 《湖南省RhD阴性献血者D基因多态性研究》	28
29. 《宁夏回族RhD阴性人群RhD基因多态性研究》	29
30. 《山东汉族RhD阴性个体基因多态性研究》	29
31. 《天津地区RhD阴性人群基因多态性分析》	30
32. 《新疆汉族与维吾尔族Rh阴性D基因多态性的初步研究及比较》	30
33. 《云南地区RhD阴性个体RHD基因研究》	30
34. 《四川部分地区汉族献血者RhD阴性个体RHD基因多态性研究》	31
35. 《RhD抗原变异体及其在输血中的意义》	31
36. 《人类Rh血型研究进展与临床应用》	32

RHD 血型专刊

(翻译, 编辑: 艾丽萍)

1. 《RhD 抗原变异型同种免疫反应研究》

作者: 饶神宗, 李归宁, 张敏, 王寒旭, 周晓亮, 陈凤花

来源: 临床血液学杂志 2017 年 30 卷 8 期

摘要: 目的研究 RhD 抗原变异型同种免疫反应。方法采用微柱凝胶卡方法检测 2015-07—2016-06 江夏区 42940 例本地居民 RhD 抗原;应用不同厂家 RhD 抗原试剂对初筛 RhD 阴性进行 RhD 阴性确认;使用 PCR-SSP 法对初筛 RhD 阴性的样本行 RhD 基因分型;应用抗人球蛋白试验检测初筛 RhD 阴性样本中的弱 D;用吸收放散试验检测初筛 RhD 阴性样本中的 Del;对初筛 RhD 阴性样本进行不规则抗体筛查和抗体特异性鉴定。结果在 42940 例中共检出 179 例 RhD 阴性;在 179 例初筛 RhD 阴性中使用血清学方法检出弱 D2 例、Del15 例,应用 PCR-SSP 方法检出弱 D5 例、D-CE (2-9) -D 融合基因型 12 例、Del 型 40 例;12 例 RhD-CE (2-9) -D 中有 2 例产检出抗 D 抗体;5 例弱 D 未检出抗 D 抗体;Ddel 型人群中未检出抗体。结论:不同 RhD 的变异型对 D 抗原有不同的免疫反应;建立不同的输血策略保障输血安全。

Rh 血型系统是人类最复杂的血型系统。在 Rh 血型系统中, D 抗原是最重要的抗原,也是免疫原性最强的抗原。因此抗 D 抗体亦是最有临床意义的抗体,在 RhD 阴性人群中有着非常重要临床意义。不同 RhD 抗原变异型在细胞上表达的强度不同,产生的临床影响也不一样。本研究收集本地区近期的 RhD 抗原变异型标本,研究其同种免疫状况,现将结果报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

2015—07—2016—06 江夏区 42940 例本地居民,其中男 20484 例,女 22456 例;年龄 1~96 岁,中位 38 岁。根据知情同意原则采集居民 EDTA 抗凝血 2ml, RhD 初筛阴性居民再采集不抗凝血 5ml。

1.2 主要试剂

微柱凝胶卡购自瑞士保亚美,单克隆抗 D 抗体试剂、抗人球蛋白试剂均购自上海血液生物医药有

限责任公司，3种抗D试剂分别购自上海血液生物医药有限责任公司、BASO和荷兰SANQUIN；基因组DNA提取试剂盒（TBG公司）；RhD基因分型试剂（PCR-SSP法）（天津秀鹏公司）；抗体筛选细胞购自上海血液生物医药有限责任公司，抗体鉴定谱细胞购自瑞士保亚美。所有试剂均在有效期内使用。

1.3Rh 血型系统抗原检测

微柱凝胶卡检测D抗原，同时使用3种抗D试剂进行血清学复查，间接抗人球蛋白试验确认弱D，用吸收放散试验检测Del。

1.4RhD 基因分型

对179例初筛RhD抗原阴性的样本，提取DNA后，再使用PCR-SSP方法进行RhD基因分型。

1.5 血清抗体检测

对初筛为RhD阴性血型的血样进行不规则抗体实验和检出的抗体鉴定。

1.6 数据分析

采用SPSS19.0对所得数据进行统计分析。

2 结果

在42940例中，共检出RhD初筛阴性标本179例，阴性率0.42%，男女阴性率 $\chi^2=0.0081$ ， $P>0.05$ ，差异无统计学意义（见表1）。应用4种不同产品筛选RhD抗原见表2。

表 1 42 940 例中 RhD 阴性率

性别	RhD(+) /例	RhD(-) /例	阴性率/%
女	22 361	95	0.42
男	20 400	84	0.41
合计	42 761	179	0.42

表 2 应用几种不同 RhD (IgG) 试剂检测 179 例标本检测 RhD 抗原

试剂	阳性数	阴性数	阴性率/%
微柱凝胶卡	0	179	100
上海血液	0	179	100
Baso	0	179	100
sanquin	0	179	100

在 179 例 RhD 初筛阴性标本中，采用间接抗人球蛋白试验检测弱 D，共检测弱 D2 例，阳性率 1.11%；使用吸收放散试验检测 Del，检出 Del15 例，阳性率 8.38%。在 179 例 RhD 初筛阴性标本中，采用 PCR-SSP 方法检测弱 D，共检测弱 D5 例，阳性率 2.79%；RhD—C E (2—9) —D12 例，阳性率 6.70%；1227A 纯 32 例，阳性率 17.88%；1227A 杂 8 例，阳性率 4.47%；Dnull117 例，阳性率 65.36%；其他 5 例，阳性率 2.79%。对 179 例 RhD 初筛阴性标本进行抗体筛查，发现 2 例阳性，经抗体鉴定，确认为抗 D 抗体（见表 3）。

表 3 检测 179 例 RhD 初筛阴性标本中产生抗 D 抗体

类型	样本数	阳性数	阳性率/%
弱 D	5	0	0
RhD-CE(2-9)-D	12	2	16.67
1227A 纯	32	0	0
1227A 杂	8	0	0
Dnull	117	0	0
其他	5	0	0

3 讨论

人类血型系统中，Rh 血型系统是最复杂的血型系统，同时是最具抗原多态性的红细胞血型系统。在 Rh 血型系统中，D 抗原是最重要的抗原，也是免疫原性最强的抗原。RhD 抗原与临床输血关系密切，RhD 血型不合的输血可危及患者的生命；母子 RhD 血型不合的妊娠，有可能发生死胎、早产和新生儿溶血症。有研究证实，50%~75%RhD 阴性人群可以通过输血和妊娠被 RhD 抗原免疫从而产生抗-D 抗体。给 RhD 阴性者输注 RhD 阳性红细胞 200ml，约 85%产生抗-D 抗体。RhD 基因位于人 1 号染色体上，由紧密连锁的 RhD 基因和 RhC E 基因串联排列组成，RhD 基因由 10 个外显子及 10 个内含子组成。

Rh 血型系统中 5 种常见抗原免疫强度不一，依次为 D、E、c、C、e。而 RhD 抗原各类型在不同细胞上表达的强度不同，从增强 D 到正常 D 到弱 D，最弱的是 Del。通常，我们将 RhD 抗原免疫强度减弱称为 RhD 变异型，RhD 变异型包括弱 D、不完全 D（部分 D）、Del。

弱 D 抗原的改变主要是发生在细胞膜内或膜中，在细胞膜外蛋白质没有发生改变，抗原仅仅是数量发生改变而性质没有发生改变。正常 RhD 阳性红细胞表面有 10000~30000 个抗原表位，弱 D 型表位仅 70~4000 个。弱 D 抗原很少产生抗体。弱 D15 型为中国人群中最常见的类型。弱 D 表现型需要用间接抗人球蛋白试验来鉴定。

部分 D 的抗原改变主要是发生在细胞膜外，抗原免疫原性和数量都发生了改变。因此部分 D 更易

产生抗体。部分 D 的 3 种类型分子形成机制：RhD/CE 融合等位基因、细胞外环的错义突变、散在的错义突变。多数部分 D 是 RhD/CE 融合等位基因，RhD Ψ 假基因和 RhD-CE-D 杂交基因是 2 种常见的部分 D 基因。我们在之前的研究中已发现 RhD-CE (2-9) -D 基因型 12 例，未检测到 RhD Ψ 假基因。

目前，多项研究发现中国汉族 Del 个体具有完整的 RhD 基因外显子，其红细胞膜可能具有完整的 RhD 抗原表达，则可不会被 RhD 抗原免疫产生同种免疫反应，同时大部分存在第 9 外显子 1227G>A 位点突变，RhD 基因第 9 外显子 1227 位碱基之后即为 5 剪接部位的保守序列 GU，当该位点由 G 突变为 A，可能干扰了核小核糖核蛋白颗粒 (snRNPs) 对 5 剪接部位的保守序列 GU 的识别，在剪接过程中将第 9 外显子连同第 9 内含子一起剪切，从而造成多条 Del 转录本均缺失第 9 外显子，无法表达正常的 RhD 蛋白是 Del 的主要等位基因。Del 型有非常弱的 RhD 抗原，是一种只能通过吸收放散试验才能检出的 RhD 血型，还可以在 RhD 阴性个体中检出。

在本研究中，在 42940 例居民中检出 179 例 RhD 抗原阴性，阴性率为 0.42%，与中国汉族 0.2%~0.5%相符合。男女性别比为 20484/22456，符合当前社会现状。男女 RhD 阴性率差异无统计学意义。在相同条件下，使用微柱凝胶卡筛选 RhD 阴性样本，应用 3 组不同厂家的 RhD (IgG) 试剂进行验证，得到相同的结论：179 例 RhD 阴性样本，应用间接抗人球蛋白试验检出 2 例弱 D，应用 PCR-SSP 检出 5 例弱 D，二者间差异无统计学意义 ($P>0.05$)。应用吸收放散试验检出 15 例 Del，应用 PCR-SSP 检出 40 例 Del，二者间差异有统计学意义 ($P<0.05$)。在对 179 例 RhD 阴性样本进行抗体筛查，发现 2 例阳性，经抗体鉴定，确认为抗 D 抗体。从而印证了部分 D 容易产生抗 D 抗体，其他类型 D 变异体不容易产生抗 D 抗体。

在本研究中我们发现部分 D 人群中产生了抗 D 抗体，而其他的 RhD 抗原变异型没有产生抗 D 抗体。在排除样本量较小因素外，我们分析不同的 RhD 抗原变异型的同种免疫强度是不相同的，发生免疫反应的强度也是不一样的，对临床的意义也不一样。同时采血机构对初筛为 RhD 阴性的样本可能会

再检测是否为弱 D，但很少有采血机构进一步检测 Del，这种状况要引起我们足够的重视。在安全输血的大前提下，对初筛为 RhD 阴性的样本尽可能采用 PCR-SSP 方法进行分型，减少差错的发生。另一方面，在临床输血工作中，真正的 RhDnull 阴性血液及制剂，不论是输注给 RhD 阴性人群还是输注给 RhD 阳性人群都不会发生溶血性输血反应。RhD 抗原变异型的血液及制剂对于献血者和受血者的要求也不一样，作为献血者，从安全角度出发，我们建议全部 RhD 抗原变异型的血液及制剂作为 RhD 阳性的血液及制剂供应临床用血机构；作为受血者，我们建议 RhD 抗原变异型的弱 D 或 Del 人群可以接受 RhD 阳性的血液及制剂，而部分 D 人群接受作为 RhDnull 的血液及制剂。这样，既保障输血安全，又能节约稀缺的血液资源。

随着研究的不断深入，我们会发现越来越详尽的 RhD 抗原变异型的基因型及分子背景，更加简单快捷的检测方法，这对于安全输血的贡献也越来越大。对于指导临床输血、保障输血安全、节约 RhD 血液资源、更有效的利用稀有血型资源具有十分重要的意义。

2. 《汉族 DEL 型孕妇可免去抗-D 产前检查》

作者：邵超鹏，徐华，徐群，孙国栋，李剑平，张伯伟，梁晓华，刘忠，周英，李丹，庄乃保

（深圳市血液中心，陕西省血液中心，山东省血液中心，邯郸市中心血站，辽宁省血液中心，河南省红十字血液中心，大连市红十字血液中心，安徽省血液中心，成都市血液中心，漯河市中心血站）

来源：中国输血杂志 2010 年 9 月第 23 卷第 9 期

摘要：目的鉴于占我国汉族 Rh(D)阴性人群约 25%的 DEL 型红细胞具有基本完整的 D 抗原表位，临床观察汉族 DEL 型孕妇妊娠 Rh(D)阳性胎儿是否产生同种免疫反应。**方法**跟踪观察和测定 207 名有妊娠史的 Rh(D)阴性孕妇产前和产后血清抗-D，根据 RhCcEe 表型和 PCR 检测 RHD1227A 等位基因鉴别 DEL 型和真实 Rh(D)阴性表型。**结果** 207 名 Rh(D)阴性孕妇中，DEL 型个体 46 名(22.2%)均未检测到血清抗-D，即使 5 名个体有 2 次或以上生育史，亦未见同种免疫反应。161 名真实 Rh(D)阴性个体中检出 40 例抗-D 阳性(24.8%)；80 名有生育史的真实 Rh(D)阴性孕妇中 30 例抗-D 阳性(37.5%)；20 名有 2 次或以上生育史的真实 Rh(D)阴性孕妇中 12 例存在抗-D(60.0%)。**结论** DEL 型孕妇妊娠 Rh(D)阳性胎儿发生抗-D 同种免疫反应的可能很小，我国 Rh(D)汉族阴性孕妇中的 DEL 个体可免去定期的产前抗-D 检测，以及免去预防性 Rh 免疫球蛋白的使用。

3. 《304例Rh阴性孕产妇的RhD同种免疫分析》

作者：郭伟，徐群，邵超鹏

来源：山东大学学报(医学版)第48卷第11期

摘要：目的分析304例RhD阴性孕产妇RhD同种免疫发生情况，探讨RhD阴性孕产妇抗D抗体产生的影响因素，建立正确的围产期孕产妇RhD新生儿溶血病监测方案。**方法**采用标准血清学方法对孕产妇及其丈夫进行ABO及RhD抗原鉴定。对RhD抗原鉴定为阴性的样本，进一步采用间接抗人球蛋白法检测RhD抗原，以排除或确认弱D型或部分D表型。对所有RhD阴性孕产妇及其丈夫进行RhCcEe表型的血清学分型。采用抗人球蛋白法对所有RhD阴性孕产妇标本进行不规则抗体初筛，对初筛阳性者进一步用鉴定细胞做抗体鉴定及抗体效价测定并采用PCR-SSP方法确定是否为Del型。**结果**3975例孕产妇标本中，304例为RhD阴性，其中29例产生抗D抗体，夫妇ABO血型相合24例(82.76%)，不合5例(17.24%)。本组调查中Rh阴性孕产妇抗D抗体产生的比例为9.54%(29/304)。**经分子生物学方法鉴定，29例产生抗D的Rh阴性孕产妇均排除Del表型。****结论**RhD阴性孕产妇RhD同种免疫的发生受多种因素影响，Del型孕产妇产生抗D概率较低。应及时、定期监测RhD阴性围产期孕产妇的抗D水平。对已产生抗D抗体的孕妇，密切监测其抗D水平，为临床治疗方案提供依据。

胎儿与新生儿溶血病(hemolyticdiseaseofthefetusandnewborn, HDFN)是一种由于母儿血型不合而引起的同种被动免疫性疾病。迄今，已发现ABO、Rh、Kell、Kidd、Duffy等红细胞血型系统的抗体可引起HDFN。其中Rh系统抗D抗体所致的HDFN最为严重，可导致胎儿贫血、水肿、死胎和新生儿核黄疸甚至死亡。

本组29例产生抗D的Rh阴性孕产妇均不含有Del基因，因此排除为Del表型，表明RhD同种免疫不会发生于Del型的孕妇中。Del表型是一种非常弱的D抗原表达型，其弱D抗原只能通过吸收放散试验才可检出，目前常规定型无法将Del型与真正Rh阴性区分开来。研究表明，亚洲人Del型存在RhD抗原的全部完整表位。因此Del型孕产妇不会受来自胎儿的RhD阳性红细胞的刺激而发生同种免疫。在最近的一项研究中，104例产生抗D的孕妇中DEL型的预期频率应为0.30，但所有这104名孕妇均不是DEL型。在另一组调查中，199例有生育史的RhD阴性孕产妇预期会有抗D同种免疫发生，其中有44例(22.1%)为DEL型。结果显示，没有一例DEL型产生抗D抗体，但另155例真正RhD阴性孕妇中的38例(24.5%)检测到了抗D抗体。**该研究结果与本文RhD同种免疫不会发生于Del型孕妇的结论相一致。**

4. 《Rh 阴性孕妇血型 D 抗原同种免疫反应研究》

作者：徐华，叶世辉，邵超鹏，邢荷香

来源：中国输血杂志 2010 年 4 月第 23 卷第 4 期

目的研究 Rh 阴性孕妇血型 D 抗原同种免疫反应，为建立有区别的 D 亚型的输血规则提供参考。方法对 RhD 阴性孕妇进行基因分型，并检测是否有抗-D；总结分析孕妇妊娠次数以及胎儿红细胞的检出与产生抗-D 之间的相关性。结果在 122 名 RhD 表型阴性的孕妇中，检出 d/d 基因型 97 例，Del 型 20 例，弱 D15 型 1 例，RHD-CE(2—9)-D/d 融合基因型 3 例，DVIII 型 1 例。在 97 名 RhD 阴性(d/d)孕妇中，有 38 例产生抗-D；20 名 Del 血型孕妇均未检出抗-D；3 名 RhD-CE(2—9)-D/d 中有 2 例产生抗-D；1 名弱 D15 型的孕妇未检出抗-D；1 名 DVIII 型孕妇抗-D 检出阳性。统计分析表明孕妇的妊娠次数以及外周血中检出胎儿红细胞的检出与抗-D 的产生有相关性，这可以成为 Rh 阴性孕妇被 D 抗原免疫的证据。结论不同 D 亚型的个体可能会对 D 抗原有不同的免疫反应，我们认为在中国 Del 血型的受者可以接收 D 阳性血液。建立有区别的输血规则可以节约有限的 Rh 阴性血资源和提高输血安全。

5.《RhD 阴性孕妇的 RH 基因型及其与抗 D 抗体产生关系的研究》

作者：朱伟彦

来源：郑州大学 2008 届硕士学位论文

摘要：新生儿溶血病(HDN)主要由于母婴血型不合引起，RhHDN 主要发生在母亲是 RhD 阴性，胎儿是 RhD 阳性，由 RhD 血型不合引起的 HDN，所以在 RhD 阴性孕妇妊娠期间确定胎儿的 RhD 血型对于预防诊断 RhHDN 有重要意义。现在已经可以在产前通过羊水或孕妇外周血用 PCR 的方法检测胎儿 RhD 基因进而推断 RhD 血型。这就要求 RhD 基因型与表型之间高度的一致性或者比较固定的联系可以进行相互的推断。但我国 RhD 阴性人的 D 外显子呈现多态性，建立在高加索人基础之上的 RhD 基因定性方法并不能直接应用。同时在临床输血中，RhD 血清学阴性者接受 RhD 阳性血液后发生同种免疫仅占 50%—75%，并且 RhD 阴性孕妇产生 HDN 仅占 5%—7%，说明并非所有的 RhD 阴性人都会产生同种免疫。因此本研究旨在一方面探索 RHD 基因型与表型之间的关系，从而在产前诊断中能够从一定程度上从胎儿基因型推测表型；另一方面分析 RHD 阴性孕妇基因型与其是否产生抗 D 抗体的关系，从而为临床预测和预防新生儿溶血病提供理论指导。

第一节 RhD 阴性孕妇表型与基因型的关系

目的: 观察中原地区 RhD 阴性孕妇的表型、基因型, 以期找出基因型与表型之间的关系, 为检测胎儿 Rhd 基因推断 RhD 表型提供理论基础, 对临床 RhDHDN 的诊断、预防极有意义。

方法: 用血凝试验筛选出 70 例 RhD 阴性孕妇并检测 RhCE 抗原表型; 用间接抗球蛋白法(IAT)、吸收放散试验进一步检测 D 抗原表型及分类; 采用聚合酶链反应-序列特异性引物扩增(PCR-SSP)技术, 检测 70 例样本的基因型, 比较分析基因型与表型之间的关系。

结果: (1)用血凝试验测得 70 例 RhD 阴性孕妇中, C、c、E、e 抗原的表型频率分别为 25.71%、74.29%、7.14%和 92.86%; 用 IAT 法及吸收放散试验测得血凝试验判断为 D 阴性的 70 例孕妇中, 54 例为真实阴性, 无弱阳性, 16 例为 Del 型; (2) RHC/E 基因的基因型与其血清表型完全一致。带有 C 抗原的 D 阴性个体的 RHD 基因结构具有多态性。检测 70 例 RhD 血清学阴性个体中, C/E 基因型为 CC 或 Cc 有 28 例, 其中不缺失 RHD 基因外显子者为 8 例, 部分缺失者为 4 例, 完全缺失者为 16 例; 不具有 C 抗原的 D 阴性个体(表现型为 ccee、ccEe 或 ccEE)均为完全缺失 RHD 基因。(3) 16 例 Del 型中 15 例不缺失 RHD 外显子型, 仅 1 例为部分缺失 RHD 基因外显子。

结论: (1) RHCE 基因型与其表型完全一致, 可根据其表型判断其基因型。因此在产前诊断中可根据胎儿 RHC/E 基因型推断其 CE 表型。(2) RhD 阴性者具有 C 抗原者其基因型具有多态性, 基因结构可分为不缺失, 部分缺失, 完全缺失三种, 不具 C 抗原者基因结构为完全缺失型。因此在产前诊断中若胎儿 RHD 基因不缺失, 并不能推断其为 RhD 阳性。(3) Del 型几乎全部为不缺失型。

表 4 70 例 RHCE 基因与 RHD 基因分布

RHC/E	RHD 例 (百分比例)		
	完全缺失	部分缺失	不缺失
ccee	36 (100.00%)		
ccEe	5 (100.00%)		
ccEE	1 (100.00%)		
Ccee	8 (44.44%)	2 (11.12%)	8 (44.44%)
CcEe		1 (50.00%)	1 (50.00%)
CCce		1 (14.29%)	6 (85.71%)
CCEe			1 (100.00%)
合计	50 (71.43%)	4 (5.71%)	16 (22.86%)

表 5 RH 基因型与表型之间的关系

基因型	表型	
	真实 D 阴性	RHDel 型
完全缺失型	50 (100.00%)	
部分缺失型	3 (83.33%)	1 (16.67%)
不缺失型	1 (5.88%)	15 (94.12%)
合计	54 (77.14%)	16 (22.86%)

第二节 RhD 阴性孕妇的 RH 基因型与抗 D 抗体产生关系的研究

目的：筛检抗 D 抗体阳性的 RhD 阴性孕妇血液样本，分析流产史、生育史对抗-D 产生的影响；分析其基因型、表型，以期找出 RhD 阴性孕妇产生抗体的规律，并从基因型或者表型初步评估产生抗 D 抗体的可能性。

方法：用微柱凝胶不规则抗体筛检卡及孕妇抗体效价测定卡进行抗-D 筛选和抗-D 效价测定；同时对于孕妇的流产史及生育史进行统计分类，研究流产史!生育史对抗-产生及其效价高低的影响。用间接抗人球蛋白试验及吸收放散试验进行进一步 RhD 抗原分类；用血凝试验进行 CE 血清型检测；采用 PCR-SSP 技术对抗-D 阳性的样本进行基因型检测；

结果：(1) 用微柱凝胶不规则抗体筛检卡及孕妇抗体效价测定卡筛选出 RhD(-)孕妇抗-D 阳性者共 35 例，其中 6 例效价大于等于 512，3 例 256，8 例 128，6 例 64，4 例 32，5 例为 16，3 例 8。产生抗体者均是有过流产或者生育的，流产生育次数越多产生抗体的几率越大，效价越高；同时有生育史者比有流产史者有更大可能性产生抗体。流产史、生育史与抗-D 的产生及抗-D 效价的高低密切相关，相对于流产史，生育史影响更强；(2) D 吸收放散试验测得 35 例标本全部为真实阴性，无 1 例为 Del 型；(3) 血凝试验测得 35 例抗-阳性孕妇的 RhC/E 表型主要为 ccee；(4) PCR-SSP 测得 35 例抗-D 阳性孕妇无一例不缺失 RHD 基因外显子；

表 8 35 例 RHCE 基因与 RHD 基因分布

RHC/E	RHD (例)		
	完全缺失	部分缺失	不缺
ccee	24		
ccEe	2		
Ccee	6	2	
CcEe		1	
合计	32	3	

结论：流产史、生育史与抗 D 的产生及效价的高低成正相关，同时相对于流产史来说，生育史对抗 D 的产生有更强的相关性。结合血清学及基因结构检测结果可知，产生抗体的 RhD(-)孕妇 C/E 血清型主要为 ccee 者，其基因型为完全缺失 RHD 基因外显子；少数部分缺失者也能产生抗体，但不缺失型则不太可能产生抗-D。

6. 《产生抗-D 的 RhD (-) 孕妇 RHD 基因型分析》

作者：蒋敏，尹倩雯，李勇，张健，王雪明

来源：中国输血杂志 2017 年 11 月第 30 卷第 11 期

摘要：目的了解 RhD(-)孕妇抗-D 产生情况，分析产生抗体的 RhD(-)孕妇其基因型与抗-D 效价之间的关系。**方法**收集本院 2012 年 1 月—2015 年 3 月门诊及住院患者中血清学初筛为 RhD(-)的血液样本共 559 例，其中孕妇 123 例，均进行抗体筛检，阳性患者鉴定抗体，对发现的抗-D 测定效价。对 8 例产生抗-D 的确证 RhD(-)孕妇血清进行 RHD 基因型分析。**结果** 8 例产生抗-D 的孕妇中，抗-D 效价为 2 的 1 例，效价 32 的 1 例，效价 128 的 4 例，效价 256 的 1 例，效价 4096 的 1 例。其中 RHD(-)2 例，RHD-CE(2-9)-D3 例，DelRHD1227A2 例，DVtype2 [DVa(Hus)] 1 例。**结论** RhD(-)孕妇中有一定比例的抗-D 产生，RhD(-)孕妇的抗-D 产生及效价与 RHD 基因型有一定的相关性。**讨论**本次实验部分 D 产生抗-D 的比例较大，且有 2 例 DelRHD1227A 产生抗-D。在本科室之前的研究中发现 Del 比例约为 28%，说明在血清学确证的 RhD(-)样本中可能有未检出的 Del，产生抗体的样本中也可能有 DEL(放散 D)，这与最终结果检出 2 例 Det1 相吻合。对于基因型为部分 D 和 Del 的孕妇来说，她们的 RHD 基因发生突变、异位或杂交导致其基因型改变，红细胞上不能表达出完整的的 D 抗原，所以受到

RHD(+)红细胞刺激后也会产生抗-D, 但抗体效价不及基因型为 RHD(-)产生的高。RhD(-)孕妇的抗-D 产生与 RHD 基因型有一定的相关性, 因此 RHD 基因检测对于预测抗体的产生以及新生儿溶血的发现与预防有帮助。

7. 《RhD初筛阴性孕产妇RHD基因表型相关研究》

作者: 王淑平, 汤伟娴, 陈慧芬, 顾少华, 李志强

来源: 临床输血与检验 2013 年 7 月第 15 卷第 3 期

摘要: 目的研究不同 RhD 基因型与抗-D 产生的相关性, 以发现与产生抗-D 及能引起 Rh 血型新生儿溶血病(HDN)相关的 D 基因表型。**方法**应用血清学方法结合分子生物学(PCR-SSP)技术。**结果** RhD 初筛阴性样本 128 例, 再行 RhD 阴性确认试验, 有 3 例样本阳性, 为 D 变异型。根据分子生物学结果表明缺失 RHD 基因 104 例; DEL 型 21 例; 弱 D15 型 2 例; DVI型III型 1 例。**结论**应对 RhD 抗原初筛试验阴性的个体进一步鉴定 RHD 基因型, 以预测与评估产生抗-D 的可能性, 从而对孕产妇进行孕期指导、监测及产后干预。

讨论

亚洲人群中变异体形式分为弱 D、部分 D 和 Del。弱 D 表型是高加索人种中最常见的 D 变异体, 约占人群的 0.2%~1%, 弱 D1~D4 占整个弱表型的 90%, 这些个体一般不会产生抗-D, 也就不会引起 HDN。据文献报道中国人群中的弱 D 主要是 D15 型, 变异位置在第 9 跨膜区, 其突变可能影响了膜的整合, 进而影响 Rh 蛋白和 D 抗原的合成表达。弱 D15 型能引起同种免疫反应, 产生抗-D, 故对弱 D15 型检测具有重要的临床意义。

DVI型是高加索人种中最常见的部分 D, 由于 RHD 基因的 2、3 或 4 个外显子被相应的 RHCE 基因的外显子所置换, 有文献报道其频率为 0.02%~0.05%, 在中国人群中也有报道。中国人中最常见 D VI型III型, 它是 RHD 基因第 3~6 外显子被 RHCE 基因相应部分替换形成的杂交基因, 极易产生针对所缺失的 D 抗原表位的抗体。由于 DVI型与临床具有极强相关性, 部分 DVI型产生的抗-D 会导致致命的 HDN。

Del 型在 Rh 阴性人群中所占比例在黑人 and 日本人中较高, 约为 30%~50%, 在中国人为 20%~30%。有文献报道 C 抗原对 D 抗原的表达有一定的关联性, 徐华等研究发现 Del 型中 C 抗原阳性占 88%。国外已有 DEL 型胎儿或红细胞免疫 RhD 阴性的孕妇和 RhD 阴性受血者由于输入 DEL 表型血液而产生抗-D 的病例报道。也有文献报道在中国汉族 RhD 阴性人群中 DEL 表型携带 RHD1227A 等位基因, 其红细胞膜可能具有完整的 D 抗原表达, 这样可能不会被 D 抗原免疫产生同种免疫反应。对于这

部分孕妇，在整个孕期及产后不需要注射 RhD 免疫球蛋白。本文研究资料表明在 128 例 RhD 抗原初筛阴性标本中，通过 RhD 抗原阴性确认试验发现阴性 125 例，分子生物学检测 RHD 缺失基因 104 例，DEL 型为 21 例；经 RhD 抗原阴性确认试验发现阳性 3 例，分子生物学检测弱 D15 型 2 例，DVI 型 III 型 1 例。另据文献报道 50%~75% Rh 阴性个体通过输血和妊娠，可受 D 抗原红细胞免疫而产生抗-D，给 RhD 阴性者输注 RhD 阳性红细胞制剂 200ml，85% 产生抗-D。RhD 阴性孕产妇中产生 RhD 同种免疫的比例为 9.54%。RhD 同种免疫易发生于 ABO 血型相合者。本文研究资料表明 22361 例孕妇中 RhD 抗原初筛试验阴性孕产妇 128 例，占 5.72%。125 例血清学 RhD 抗原确认试验阴性孕产妇中仅 2 例体内出现抗-D，经分子生物学确认均为 RHD 缺失基因。由此可见，应对 RhD 抗原初筛试验阴性的个体进一步鉴定 RHD 基因型，以预测与评估产生抗-D 的可能性，从而对孕产妇在孕期进行指导、监测及产后及时干预。

8. 《RhD 阴性围产期妇女 RH 基因型及同种免疫研究》

作者：孙瑜，翁美芝，熊莉，何华庆，周小英，黄丽红，刘强，李国良

来源：实验与检验医学，2015(4)：418-420

摘要：目的研究江西地区 RhD 阴性围产期妇女 RhD 抗原的基因分型及 RhD 抗原同种免疫状况，寻找 D 抗原免疫的具体特点，并针对 RhD 阴性围产期妇女同种免疫的特点制定不同的检测和防治策略。方法详细记录 2013 年-2014 年 170 例初筛为 RhD 阴性的围产期妇女孕产史；采用血清学方法确认 Rh 血型系统各抗原特异性，进行不规则游离抗体筛查和抗体特异性鉴定；使用 PCR-SSP 法对 IAT 确认为 RHD 阴性的样本行 RHD 基因分型。结果 RhD 阴性孕妇 RhC/E 血型分型结果中前两位为：ccee：94 例(55%)与 Ccee：54 例(32%)；RHD 基因分型结果为：RHD-CE(2-9)-D 型：107 例(63%)，DEL RHD1227A：21 例(12%)，弱 D15 型：5 例(3%)，RH 阳性：32 例(19%)，RH 阴性：5 例(3%)；170 例初筛为 RhD 阴性的孕产妇抗中共有 8 例产生了抗-D，产生比例为 4.71%，此类孕妇均多次流产且至少生产一次，且 Rh 血型系统血清学分型均为 ccee，8 人中，RHD 基因学分型为 3 例 RHD-CE(2-9)-D 型，5 例 RHD 阴性。结论流产史与生育史和 RhD 阴性孕妇抗-D 的产生呈正相关，怀孕生产次数增加提高了 RhD 阴性围产期妇女产生抗-D 的可能性；产生抗-D 的 RhD 阴性孕妇 C/E 血清型主要为 ccee；除 RHD 阴性外，RHD-CE(2-9)-D 型孕妇产生抗 D 的几率较高；及时检测围产期孕妇的 RHD 基因型并筛查其血清抗体，可对 RhD 新生儿溶血病的及时治疗提供重要依据。

9. 《体内含有抗 D 抗体 RhD 阴性妇女的 RHD 基因 Rhesusboxes 及外显子分析》

作者：杨波，吕运来，朱丽莉，苏聚通，兰炯采

来源：临床血液学杂志 2013 年 26 卷 4 期

摘要：目的探讨抗 D 抗体的产生与 RHD 基因 Rhesusboxes 及外显子的相关性。方法收集有抗 D 抗体的血液样本 42 例，血型血清学方法检测 Rh 表型，间接抗球蛋白试验确定 RhD 阴性，吸收放散试验确定 RhDel 型，聚合酶链式反应一序列特异引物技术检测 RHD 基因 Rhesusboxes 及外显子。结果在 42 例样本中，24 例（57.14%）样本只含有杂交盒，18 例（42.86%）样本中同时含有上游盒、下游盒和杂交盒；RHD 基因 10 个外显子全部缺失的有 23 例（54.76%），部分缺失的有 10 例（23.81%），所有外显子全部存在的有 9 例（21.43%）。结论 RhD 阴性女性经妊娠产生了抗 D 抗体，很可能与 RHD 基因的杂交 Rhesusbox 及 RHD 基因的不完整性有关。

10. 《RhD 阴性个体遗传多态性与抗-D 同种免疫关系研究》

作者：闫芳

来源：军事医学科学院硕士学术论文

摘要：

目的

通过对血清学试验确认 RhD 阴性个体的 RHD 基因型检测，研究不同类型遗传学背景 RhD 阴性个体与抗-D 同种免疫的关系。重点探讨各种 RhD 变异型个体的献血及输血策略，为稀有血液的合理应用提供理论依据。

方法

1、对 2011 年 3 月至 2013 年 6 月医院送检的 Rh 阴性个体，通过询问输血史和妊娠史排除没有免疫史的个体。采用盐水试管法和间接抗人球试验（IAT）排除血清学试验常规试验阳性的个体。对孕妇的流产史及生育史进行分类，研究流产史及生育史对抗-D 产生的影响。

2、采用微柱凝胶法筛查抗体，并通过谱细胞进行抗体鉴定，确认抗体特异性。检测这些样本的 Rh 表型，包括 D、C、c、E 和 e 抗原。

3、采用序列特异性引物 PCR（PCR-SSP）技术及 DNA 序列分析技术，分析样本的 RHD 基因。人类红细胞 RHD 阴性鉴定基因检测试剂盒可检测的基因型包括 RhD 阳性、RhD 阴性、RhD-CE(2-9)-D、DVa(Hus)、DVIII 型、弱 D15 型和 DELRHD1227A。

结果

1、本研究观察有免疫史 RhD 阴性个体共计 336 例。其中 22 例有输血史的个体均为医院在输血前检查时发现抗体筛选阳性的送检标本样本，对其进行抗体鉴定试验确定抗体特异性均为抗-D。通过询问病史患者都是以往输用过 RhD 阳性血液或不能明确所输用血液具体种类的个体。314 例有过既往妊娠史的 Rh 阴性孕妇中产生抗-D 46 例，其中 G2P0 孕妇 96 例，产生抗-D 个体 4 例，阳性率 4.2%；G2P1 孕妇 41 例，产生抗-D 个体 6 例，阳性率 14.6%；G3P0 孕妇 125 例，产生抗 D 个体 10 例，阳性率 8.0%；G3P1 孕妇 38 例，产生抗-D 个体 14 例，阳性率 36.8%；妊娠超过三次的孕妇 38 例，产生抗-D 个体 14 例，阳性率 36.8%。

2、通过 DiaClonRh-Subgroups+k 卡测得对 336 例 IAT 阴性标本进行 Rh 表型鉴定。Ccee 的个体为 185 例(55.06%)，Ccee 个体 119 例(35.42%)，CCee 个体 14 例(4.17%)，ccEe 个体 11 例(3.27%)，CcEe 个体 7 例 (2.08%)。

3、通过 DiaClonRh-Subgroups+k 卡测得 68 例产生抗-D 的 RhD 阴性个体中，Rh 表型为 ccee 的个体为 56 例 (82.3%)，Ccee 个体 5 例 (7.4%)，CCee 个体 4 例 (5.9%)，ccEe 个体 2 例 (2.9%)，CcEe 个体 1 例 (1.5%)。其中表型为 ccee 的个体产生抗-D 的比例最高，达 82.3%。

4、通过人类红细胞 RHD 阴性鉴定基因检测试剂盒对 336 份样品进行检测，发现其中 249 例 (74.1%) 个体完全缺失 RHD 基因，168 例 (20.2%) 个体携带 RHD1227A 等位基因，19 例 (5.6%) 携带 RHD-CE (2-9) -D 融合基因。

5、68 例 RHD1227A 个体 Rh 表型为 ccee 的个体为 0 例，Ccee 个体 56 例 (82.4%)，CCee 个体 8 例 (14.2%)，ccEe 个体 1 例 (1.8%)，CcEe 个体 3 例 (5.36%)。

6、抗体鉴定确定产生 IgG 抗-D 的个体 68 例，其中 63 例(92.6%)完全缺失 RHD 基因，5 例(7.4%)携带 RHD-CE (2-9) -D 融合基因，携带 RHD1227A 等位基因未检出产生抗-D 的个体。产生抗体的基因型均为完全缺失 RHD 基因和 RHD-CE (2-9) -D 融合基因个体，DEL RHD1227A 个体没有产生抗-D。

结论

血清学确认 RhD 阴性个体的 RHD 基因型具有多态性，北京地区主要以 RHD 基因缺失为主，其次为 RHD-CE (2-9) -D 型和 DEL RHD1227A。抗-D 的产生与 Rh 阴性个体受到 D 抗原刺激的数量有关，妊娠和生育的次数与抗 D 的产生呈正相关。完全缺失 RHD 基因和 RHD-CE (2-9) -D 融合基因个体被 D 抗原免疫时有同种免疫风险，作为受血者应输用阴性血。Del 个体与 C 抗原具有高度相关性，在中国汉族人群中最常见的 DEL 型 RHD1227A 个体没有产生抗-D，或许可以输用阳性血。

11. 《RhD 阴性患者输注 DEL 型血液的安全性研究》

作者：王敏，王保龙，周明，完晓菊，廖艳秋

来源：临床输血与检验 2017 年 6 月第 19 卷第 3 期

摘要：目的探讨 RhD 阴性患者输注 DEL 型血液的安全性。方法采用间接抗人球蛋白法及热吸收放散方法对 RhD 阴性献血者血液进行 DEL 型检测，并采用 DNA 测序方法分析 DEL 型献血者的 RHD 基因序列，回顾性分析接受 DEL 型血液 RhD 阴性患者体内抗-D 产生情况。结果经吸收放散方法确认的 13 例 DEL 阳性的献血者均携带 RHD1227A 等位基因，12 例接受 DEL 型血液的 RhD 阴性患者体内抗-D 水平均无变化，1 例患者体内抗-D 水平由 8 升高到 32。结论 DEL 型血液引起抗-D 同种免疫反应的可能性较低，但 DEL 型血液仍具有一定的免疫原性，对于体内已存在抗-D 抗体的患者应避免输注 DEL 型血液。讨论 DEL 型是弱 D 的一种，其红细胞膜表面 D 抗原表位数目较少，仅通过敏感的吸收放散方法检测出来，称为 D 放散型。DEL 型在高加索人种较少见，在我国 RhD 阴性人群中高达 26%，绝大部分表现为 RHD1227G>A 碱基突变。关于 RhD 阴性患者接受 DEL 型血液输注的安全性一直备受临床输血界的关注，通过调查本院 RhD 阴性患者接受 DEL 型血液后体内抗-D 同种免疫反应的产生情况，进一步分析 RhD 阴性患者接受 DEL 型血液输注的安全性。

与高加索人种相比，DEL 型在亚洲人群中呈现高表达，约占总 RhD 阴性人群的 1/3，我国各地区报道的 DEL 型比率不同，Shao 等报道广东深圳地区 DEL 型占初筛 RhD 阴性人群的 26%。本课题组报道安徽地区 DEL 型占初筛 RhD 阴性人群的比率为 22%。采用 DNA 测序检测 DEL 型献血者 RHD 基因序列，结果显示 17 例 DEL 型献血者均携带 RHD1227A 等位基因。

RhD 真实阴性受血者输用 DEL 型血液后体内抗-D 效价升高或抗-D 抗体从无到有。我国学者冯双利于 2001 年报道 1 例 RhD 阴性患者输注 DEL 型血液后体内产生抗-D 抗体，王宝燕等报道 2 例输注 DEL 型血液的 Rh 阴性患者，抗-D 效价升高。

目前我国通过间接抗人球蛋白法对 RhD 阴性献血者进行弱 D 筛查，但并未进行 DEL 型检测，临床输血中 DEL 型血液一直以此作为 RhD 阴性血液应用于临床输血。基本完整的 D 抗原表位表达及携带完整的 RHD 基因表明 DEL 型血液仍具有一定的免疫原性，存在导致输血不良反应的风险。本次研究采用传统的抗人球蛋白试管法，动态监测 RhD 阴性患者输注 DEL 型血液前及输注后 1 周~12 个月体内抗-D 水平的变化，从而评价 DEL 型血液输注给 RhD 真阴性患者的安全性，同时采用 DNA 测序检测 DEL 型献血者的 RHD 基因序列，结果显示 17 例 DEL 型献血者均携带 RHD1227A 等位基因；12 例 RhD 阴性患者体内抗-D 水平无任何变化，效价均是 0，1 例 RhD 阴性患者体内抗-D 效价由 8 升至 32，结果提示，DEL 型血液具有一定的免疫原性。由于 DEL 型个体红细胞膜表面表达的 D 抗原数目

较少，不足以引起初次抗-D 免疫应答，因此，DEL 型血液对于患者输注前体内未产生抗-D 的 RhD 阴性患者来说应该是安全的，但对于患者输注前体内已存在抗-D 抗体的患者应避免输注 DEL 型血液，因为 RhD 阴性个体首次输血或妊娠时机体会被 RhD 阳性血液致敏，当该个体再次受到 D 抗原刺激时，只需极少量的 D 抗原阳性的红细胞即可激发 B 细胞回忆反应，导致大量的抗-D 产生。对于 DEL 型血液输注的安全性分析尚需扩大样本量，深入探讨不同 DEL 基因型个体的免疫原性，制定出更加完善的 RhD 阴性患者血液输注原则，规范 RhD 阴性患者血液输注流程，确保临床输血安全。

12. 《Rh 阴性个体输入 Del 红细胞产生抗-D 免疫的研究》

作者：王宝燕，张建耕，徐华，吴大州，王满妮，张文利，刘淑会

来源：中国输血杂志 2011 年 07 月第 24 卷第 07 期

摘要：目的探讨 Rh 阴性个体输注中 Del 型红细胞的 D 抗原免疫原性。**方法**对临床输血的 Rh 阴性患者进行回顾性跟踪检测，采用 PCR-SSP 法检测标本 RHD 基因，间接抗球蛋白法检测抗-D 效价，流式细胞术对比输注前后抗体强度的变化。**结果**2 名输注 Del 型血液的 Rh 阴性患者，抗-D 效价升高，流式细胞术检测结果显示抗-D 强度明显升高，说明 Del 表型红细胞具有一定的免疫原性。**结论**为了保障临床输血安全，常规血清学检测 Rh 阴性的供血者，应进一步排除弱 D 及 Del 型。**讨论**虽然弱 D 表现型个体和 Del 型个体的 D 抗原表达都极弱，但其红细胞表面的 D 抗原是完整的，仍具有一定的免疫原性。目前卫生部和输血协会也无关于 Del 表型血液的特殊规定，所以 Del 血液被视为 D 阴性血液使用，这方面的报告和研究多有空白。我们认为在输入 Del 血液后，抗体升高是由于体内对 D 抗原免疫记忆的反应，记忆 B 细胞再次接触虽然很弱的 D 抗原，可还会发生显著的反应，即回忆反应，导致抗-D 显著升高，但这也说明了 Del 表型红细胞具有一定的免疫原性，尤其在反复输注后。国外已有报道证实 RhD 阴性患者输注 Del 血液后，产生了抗-D 或体内抗-D 效价升高，可能引起输血反应，成为临床输血中的不安全因素；所以在 RhD 检测时不可忽略弱 D 及 Del 的检测。尤其对确定 Rh 阴性供血者时排除弱 D 及 Del 更为重要。

13. 《RhD(-) 无偿献血者中 RhD 表型与基因型检测情况分析》

作者：谈维

来源：临床输血与检验 2017 年 12 月第 19 卷第 6 期

摘要：目的寻找一种有效针对无偿献血者的 RhD 血型基因定型方法。**方法**对 30 例 RhD(-) 无偿献血者血液样本进行 RhD 基因定型、弱 D 检测和 RhCE 基因定型。应用荧光定量 PCR 检测 RHD 启动子、第 4 内含子，以及第 7、10 外显子。**结果**30 例 RhD(-) 无偿献血者中，21 例未检测到 RHD 基因，2

例为杂交型，其余 7 例存在 RHD 启动子、第 4 内含子和第 7、10 外显子，其中 5 例为 DEL 型，1 例为弱 D，1 例为部分 D。30 例无偿献血者的 RhCE 基因型为：20 例 C - E - c+e+，6 例 C+E - c+e - ，2 例 C+E - c+e+，1 例 C - E+c+e - 。结论采用 RHCE 分型作为 Rh(-)定性的筛选检查，能较好地区分 D 变异体。

抗-D 抗体能导致溶血性输血反应和新生儿溶血性疾病，因此预防 RhD 阴性患者产生抗-D 在临床上尤为重要。通常情况下，RhD 阴性血液必须输注给 RhD 阴性受血者。一旦 RhD 阴性妇女孕育了 RhD 阳性胎儿，必须在孕晚期及生产后 72h 内注射抗-D 免疫球蛋白。但最近有较多报道显示，输注 RhD 阴性血清可引起抗-D 异源免疫，这些献血者 Rh 血型最终被确定为 DEL 型。DEL 是一种很弱的 D 抗原，不能被常规血清学试验检测出，必须通过吸收-放散试验检出。据报道亚洲人群中，常规血清学试验确定的 RhD 阴性人群实际应为 DEL 型。有学者认为，RhD 阴性人群必须避免输注 DEL 型血液，以预防抗-D 异源免疫或延迟性溶血性输血反应的发生。由于常规血清学方法检出 DEL 型有一定难度，因此，建立一种分子筛查 RHD 基因方法十分必要。

讨论 Rh(-) 血型在亚洲人群中并不常见，仅占约 1%。对于无偿献血工作而言，招募并维持固定稀有血型献血者十分重要。如何正确鉴定 RhD(-) 血型更是关系到临床输血安全的重要问题。为避免 RhD(-) 受血者因输注含 RhD 变异体（包括 DEL 型）血液引起 RhD 异源免疫，我们对 RhD(-) 无偿献血者进行 RhD 抗原和基因检测。目前，许多学者都关注 RhD 变异体（包括 DEL），这些变异体往往不能被常规血清学试验检出。本研究发现 30 例无偿献血者中 DEL 型、弱 D 和部分 D（各占 8.33%、3.33%和 3.33%）均被常规血清学定型为 RhD(-)。

14. 《RhD 血型对肾移植影响的初步研究》

作者：奉艳林

来源：南方医科大学 14 级硕士学位论文

摘要：目前，被国际输血协会（ISBT）确认的 29 个红细胞血型系统中最具多态性和复杂性的血型系统即是 Rh 血型系统。传统上，认为 Rh 血型系统在临床中的重要性仅次于 ABO 血型系统。RhD 是 Rh 血型系统中最为重要的血型表型，根据红细胞表面是否含有 D 抗原将 Rh 血型分为 Rh 阳性和 Rh 阴性。RhD 血型是肾移植术前的必备检测项目。D 抗原在大多数个体中是表达的，有一部分个体的红细胞与抗 D 血清反应较弱，提示 D 抗原在红细胞表面表达异常，这其中包括弱 DF(weakD)、部分 DF(partialD)、放散 DF(Del) 表现型等，而这些 D 抗原变异型的血清学初筛结果部分为阴性，这种 RhD 假阴性的存在对肾移植供受者产生了潜在的威胁。2012 年 1 月 1 日起，欧美日均已实行对所有 RhD 血清学阴性

的供受者进行 RHD 基因检测，而目前在我国肾移植中 RhD 血型的确定基本为血清学检测。RhD 假阴性变异型是影响中国肾移植长期生存未被重视的一个领域。为此，本研究对经血清学检测为 RhD 阴性的潜在肾移植受者 103 例血液样本行定量 PCR 检测 RHD10 个外显子，分析 D 抗原变异型（弱 D、部分 D、放散 D 表现型）对临床肾移植供受选择的影响，同时分析 RhD 血型对肾移植术后的相关影响。

目的探讨我国肾移植中 RhD 阴性血型对肾移植供受者选择及肾移植术后的影响。**方法**收集 2006 年 1 月-2016 年 1 月我科等候肾移植的患者中经血清学检测为 RhD-Neg 的血样 103 例，采用分子生物学方法（定量 PCR-测序技术）进行 RHD 基因分型。**结果** 103 例血样中，RhD 真阴性（即 10 个外显子全部缺失）56 例（占 54.5%），RhD 假阴性（即 RhD 阳性，但是 10 个外显子中有部分缺失、重复、错义突变）47 例（占 45.6%）。在 47 例 RhD 假阴性中，放散 DF(Del)33 例（占 70.2%）、部分 D(partialD) 占 13 例（占 27.7%），弱 D (weakD) 1 例（占 2.1%）。血清学与分子生物学对 RhD 阴性识别的差异呈统计学显著性（ $P<0.001$ ）。**结论**血清学检测出的 RhD 阴性中有 45.6% 实际为 RhD 阳性变异体，说明血清学技术对识别 RhD 阴性呈较高错误率。由此，在临床肾移植中，会导致 RhD 变异体的受者丧失肾脏移植替代治疗的机会；RhD 变异体的供者移植给 RhD 真阴性的受者后可能发生不明原因的排斥反应、移植肾功能恢复延迟（DGF）、移植物存活时间缩短等不良愈后。本研究证明，利用分子生物学技术进行受者和供者 RhD 血型基因分型，对于精确肾移植的进步具有重要的临床意义。

《美国输血协会血库和输血机构标准》要求对献血者的标本检验是否是弱 D 表型，如果阳性结果要表明是 D 阳性血。一定要注意，对受者血清中已有抗-D 时，切不可输用弱 D 型红细胞，因该受者血清抗-D 会极快地破坏输入的弱 D 型红细胞。《美国输血协会血库和输血机构标准》要求受血者标本只做完全抗体抗-D 的直接凝集试验。对于只能经抗球蛋白试验检测出的弱 D 表型的受血者，在一般情况下被作为 D 阴性受血者。

15. 《DEL 型红细胞输注 RhD 阴性患者抗-D 抗体调查分析》

作者：张建军

来源：安徽医科大学硕士学术论文

摘要：

目的：

因为 DEL 型红细胞膜上的 D 抗原数量非常少，只有通过敏感的吸收放散试验才能检出。近年来，DEL 的临床输血安全问题受国际关注，日本和韩国先后报道了“亚洲型” DEL 导致 RhD 阴性患者产生的抗-D 免疫反应（初次和回忆反应），国内仅 2001 年观察到 1 例真实 RhD 阴性患者输注 DEL 红细胞

后产生抗-D 同种抗体，但更多文献报道真实 RhD 阴性患者在接受 DEL 供者红细胞后没有发生输血反应，也未检测到抗-D。我们追踪临床接受 DEL 红细胞的 RhD 阴性患者 20 例，观察临床输血反应，检测其血清中是否有抗-D 抗体的产生，探讨 DEL 型个体弱表达 D 抗原的临床免疫原性。

方法：

1.供者 DEL 红细胞的筛查。RhD-DEL 型是从血清学角度定义的，由 IAT 确认的 RhD 阴性经吸收-放散试验检测为 D 抗原阳性。我们对供者血细胞采用血型血清学检测，包括盐水法、间接抗人球蛋白法、吸收放散试验筛选 DEL 型红细胞。DEL 红细胞临床相关的抗原主要有 D、C、c、E 和 e 等 5 种，可以采用相应的单克隆抗血清来鉴定。

2.输注 DEL 型红细胞的 RhD 阴性患者血型鉴定和抗-D 抗体检测。为了观察 DEL 表达 D 抗原的免疫原性，我们追踪临床接受 DEL 红细胞的 RhD 阴性患者，采集患者输血后 6 个月内的 EDTA.K2 抗凝血，共 20 例，男 10 例，女 10 例，年龄为 14~78 岁，平均 38.75 岁。对患者红细胞采用血型血清学检测（包括盐水法、抗人球蛋白法、吸收放散试验）和血型的分子生物学检测。分子生物学检测采用天根血液基因组 DNA 提取试剂盒提取 DNA，采用试剂盒 PCR-SSP 扩增，产物用 2%琼脂糖凝胶电泳检测，通过凝胶成像仪成像。对患者血清采用凝聚胺法、间接抗球蛋白试验和微柱凝胶法筛查不规则抗体，然后对筛查阳性的标本通过谱细胞进行不规则抗体鉴定，并进行效价滴定。

结果：

1.2010 年 1 月至 2011 年 3 月安徽省血液中心献血者共检测 421 例 RhD 确认阴性标本。吸收放散试验检出 DEL 108 例，比例为 25.6%；RhD 真阴性 313 例，比例为 74.4%。对 108 例 DEL 样本进行 RhCcEe 因子测定，结果显示 85.2%的样本中含有 C 抗原。

2.20 例患者红细胞血清学检测 5 例为 DEL 型，占 25%；15 例为 RhD 真阴性，占 75%。PCR-SSP 扩增显示 5 例 DEL 型都含有 RhD 基因（K409K）。5 例 DEL 型患者无论男女都未检测出抗-D 抗体，抗-D 抗体阳性的患者都为 RhD 真阴性。患者血清检测出 2 例女性标本不规则抗体为阳性，效价分别为 32 和 512，所有男性血清中都未发现不规则抗体。谱细胞鉴定不规则抗体都为抗-D 抗体。其中 1 例为第一次输血的妊娠女性，22 岁，其儿子血样 RhD 为阳性，提示母体内抗体可能为妊娠引起；另 1 例女性，36 岁，输 DEL 红细胞前后其血清抗-D 抗体都为阳性，调查其病历发现生育史 5 次，曾于 1997 年产下一女婴，女孩健在，此次输入 DEL2u，也未发生输血反应，输血前后抗-D 抗体效价都为 512，胆红素也未见明显变化，输血 2 周后出院。

结论：

1.“亚洲型” DEL 表型个体通常为 C 抗原阳性个体，C 抗原可作为初筛“亚洲型” DEL 的 1 个重要标志。

2.在本次调查的 20 例样本中, DEL 型的个体未检出抗-D 抗体, 产生抗-D 抗体的个体未检出 DEL 型, 提示 DEL 个体可能不会被诱导产生同种免疫抗-D 抗体。

3.本次调查所有男性 RhD 阴性患者接受 DEL 红细胞后都未产生抗-D 抗体, 1 例含有抗-D 抗体的 RhD 真阴性女性接受 DEL 红细胞后临床也未出现输血反应, 提示 DEL 红细胞导致 RhD 阴性受者产生同种免疫反应几率可能很低。

16. 《20 例输注 Del 型红细胞 RhD 阴性受者的回顾性分析》

作者: 张建军, 刘忠, 姚余有

来源: 临床输血与检验 2011 年 7 月第 13 卷第 3 期

摘要: 目的探讨 Del 型红细胞是否诱导 RhD 阴性受者产生同种免疫反应。方法用吸收放散试验鉴定 Del 型血液, 对临床输注 Del 型红细胞的患者进行追踪, 采集输血后 1 周~1 年的患者血液标本, RhD 抗原初筛阴性的标本采用间接抗球蛋白试验(IAT)进行阴性确认。对患者血清采用凝聚胺法、间接抗球蛋白试验和微柱凝胶法筛查不规则抗体, 然后对筛查阳性标本用谱细胞进行不规则抗体鉴定, 并进行效价测定。结果采集到输注 Del 红细胞的 RhD 阴性受血者样本 20 例, 男性 10 例, 女性 10 例, 女性均有孕产史。Del 型受血者 5 例, 男性 2 例, 女性 3 例, 输注 Del 红细胞后未发生输血反应, 不规则抗体筛查阴性。真实 RhD 阴性受血者 15 例, 男性 8 例, 女性 7 例, 8 例男性和 5 例女性患者输注 Del 红细胞后未发生输血反应, 不规则抗体筛查阴性; 2 例妊娠女性抗-D 为阳性, 未出现输血反应。结论 Del 型个体未检出抗-D, 产生抗-D 的个体未检出 Del 型。Del 红细胞导致 RhD 阴性受者产生同种免疫反应的概率可能很低。

17. 《52 例 RhD 阴性患者 D 变异型和抗-D 抗体检测分析》

作者: 涂同涛, 魏晴, 周金安

来源: 华中科技大学学报(医学版)第 37 卷第 1 期第 139 页

摘要: 弱 D 具有正常 D 抗原所有表位, 只是表达减弱; 部分 D 缺乏正常 D 抗原的部分表位, 被 D 抗原阳性红细胞免疫通常会产生抗-D 抗体, 最常见的能产生抗-D 的是 DVI。本研究中弱 D 在 RhD 阴性中的检出率为 3.8%, DEL 型检出率为 11.5%, 与相关报道一致。弱 D 型作为献血者和受血者应不同对待: 受血者视为 RhD 阴性, 献血者视为 RhD 阳性。在德国对弱 D 受血者和孕妇必须进行 RhD 基因型检测, 弱 D1, 2, 3, 4.0, 4.1 型受血者可以接受 RhD 阳性血液, 该型孕妇也不需要接受 Rhlg 预防治疗。对患者 D 抗原的检测, 不同国家标准不一。在美国使用 FDA 批准的一种抗-D 试剂, 在欧洲

对受血者和孕妇要用 2 种抗-D 试剂。我国只用 1 种不能与 DVI 型红细胞凝集的抗-D 试剂检测，避免 D VI 型被鉴定为 RhD 阳性。抗-D 抗体多为免疫性抗体，一般由输血和妊娠所产生。约 85% 的 RhD 阴性患者在输入大量 RhD 阳性红细胞后能产生抗-D 抗体。当 RhD 阴性妇女妊娠 1 个 RhD 阳性胎儿时，大约有 5%~7% 的产妇可检出抗-D 抗体。本研究中共检出 9 例不规则抗-D，6 例因多次妊娠而产生，仅 2 例患者是因输血而产生抗-D 抗体。可见在实行 D 抗原相配合的输血策略后，妊娠正成为不规则抗-D 产生的首要原因。

在本研究 35 例 RhD 阴性女性患者中，有 7 例检出抗-D 抗体(20%)，均发生过新生儿溶血或自然流产，所以对孕妇必须进行常规的 RhD 鉴定和不规则抗体检测，对新生儿溶血病的早期诊断和预防有重要意义。

18. 《检出免疫性抗体的 RhD 阴性献血者基因型分析》

作者：张春燕，李继红，赵素珍，刘杰

来源：中国实验血液学杂志，2012：20(3)

摘要：目的本研究分析检出免疫性抗体的 RhD 阴性献血者的 RhD 基因型。方法对自 2008 年 4 月 1 日至 2011 年 9 月 30 日哈尔滨市自愿无偿献血者血清学检测确证为 RhD 阴性的献血者进行免疫性抗体筛查，对检出免疫性抗体的样本采用 PCR-SSP 及 DNA 序列分析进行 RhD 的基因型检测。结果 1265 例 RhD 阴性献血者检出免疫性抗体 12 例(占 0.95%)，其中 9 例为抗-D 抗体，3 例为抗-(D+C)抗体；基因型检测结果 10 例为 RhD 阴性、2 例为 RHD711DeIC。结论 RhD 阴性和 RHD711DeIC 献血者易被免疫产生抗体；RhD 阴性人群尤其是女性应提高意识，避免误输 RhD 阳性血液，避免多次妊娠导致新生儿溶血病。

19. 《Rh 弱 D、Del 的检测及意义》

作者：林甲进，朱碎永，白植地

来源：温州医科大学学报，2008，38(4)：361-362

摘要：目的探讨初筛为 Rh(D)阴性样本中弱 D、Del 的检测及临床意义。方法采用常规血清学方法初筛 Rh(D)血型，用微柱凝胶抗人球蛋白试验检测弱 D，用吸收放散试验检测 Del，用 PCR-SSP 法检测样本 RhD 基因 8 个外显子结构。结果常规血清学初筛 Rh(D)阴性 60 例中经微柱凝胶抗人球蛋白试验确认为弱 D4 例，占 6.67%；56 例 Rh(D)阴性标本经吸收放散试验后确认 13 例为 Del，占 21.67%；对其中 2 例弱 D 和 5 例 Del 标本的 D 基因 8 个外显子检测都完整存在，排除了弱 D、Del 的 10 例 Rh(D)

阴性标本其基因检测有完全缺失和部分缺失两种可能。**结论**为了临床输血安全，常规血清学检测 Rh(D) 阴性者，应当再用抗人球蛋白试验或吸收放散试验检测是否为弱 D 或 Del。

20.《PCR-SSP 基因分型技术在 Rh 血型鉴定中的应用研究》

福州市中心血站：陈志忠，陈尚良，廖扬勋，陈超红，余文潮，梁剑锋，梁丽婷

来源：分子诊断与治疗杂志 2012 年 7 月第 4 卷第 4 期

摘要：目的研究聚合酶链式反应-特异性序列引物（polymerase chain reaction-sequencespecific primer, PCR-SSP）基因分型技术在 Rh 血型鉴定中的应用。**方法**收集广东省肇庆市无偿献血者 RhD 阴性血型样本 2 例、RhD 阳性样本 1 例，采用盐水法进行 C、c、D、E、e 抗原分型，对 D 抗原阴性的样本采用抗人球蛋白法进行确认。提取样本基因组 DNA，并应用 PCR-SSP 基因分型技术特异性扩增 RhD 以及 RhCE 基因片段，并对 D 外显子进行检测。根据有无 PCR 产物以及产物长度，判断样本的基因型。**结果**1 例 RhD 阳性样本以及 ccdee 样本的血清学分型与基因分型结果相符合，1 例 Ccdee 样本的血清学分型与基因分型结果不相符。**结论** PCR-SSP 基因分型技术在 RhD 血型鉴定中能识别血清意义上的假阴性，在临床输血实践中具有广阔的应用前景。

Rh 血型 D 抗原血清学鉴定一般首先通过抗-D (IgM 或 IgM+IgG) 在盐水介质中初筛，然后通过经典间接抗球蛋白试验确认，检测为阴性即判断为 RhD 阴性表型，检测为阳性则为 RhD 阳性表型、弱 D 型或部分 D 型。然而，经典的抗人球蛋白实验由于步骤繁琐、耗时较长、不容易实现标准化等缺点而存在较大的局限性；同时，日本学者 Okubo 等发现在由抗人球蛋白实验确认的 RhD 阴性表型个体中，有一部分人的红细胞经吸收-放散试验检测可表现为 D 抗原阳性。基于血清学分型方法的缺陷，我们引入聚合酶链式反应-特异性序列引物（PCR-SSP）基因分型技术用于 Rh 血型鉴定，研究其在临床输血实践中的应用价值。

用基因分型的手段对 RhD 血型进行鉴定，一方面，作为供者，可以避免误将 Del 血液输注给 RhD 阴性患者；另一方面，作为受者，Del 的患者并非真正意义上的 RhD 阴性，可不必等待宝贵的 RhD 阴性血液，导致耽误抢救时机。

21.《检测孕妇血浆游离胎儿 DNA 预测胎儿 RhD 基因型的研究》

作者：陈淑红，王宁萍，胡红梅，苏迎秋

来源：宁夏医学杂志 2014 年 7 月第 36 卷第 7 期

摘要: 目的研究运用实时荧光定量 PCR 技术检测孕妇血浆游离胎儿 DNA 来预测胎儿 RhD 基因型的可行性。方法通过微量 DNA 抽提技术,用实时荧光定量 PCR 检测 81 例 RhD 阴性孕妇血浆游离胎儿 DNA,用男性性别决定基因(SRY)确定胎儿 DNA 的存在,以未有妊娠史的健康女性和健康男性作为阴性和阳性基因对照。对 53 例孕男胎的 RhD 阴性孕妇血浆游离胎儿 DNA 进行 RhD 基因外显子 7、10 和内含子 4 的特异性扩增,与孕妇产后采集的新生儿脐血 RhD 定型结果对比分析。结果①81 例 RhD 阴性孕妇中 53 例经产后证实为男胎,母血浆中检测到男性性别决定基因(SRY)特异性扩增的 51 例,灵敏度为 96.2%,特异性为 93.3%,准确率为 97.5%,说明存在胎儿 DNA。②孕妇血浆中胎儿 DNA 的 RhD 基因型检测,53 例中有 49 例胎儿 DNA 的 RhD 基因型与表型相符,准确率为 92.5%。结论利用实时荧光定量 PCR 技术检测 RhD 阴性孕妇血浆游离胎儿 DNA 来预测胎儿 RhD 基因型,是一种敏感性高、特异性好的无创性产前诊断方法,可用于新生儿 RhD 溶血病的诊断和预防。

22. 《中国人 Rh 血型 D 抗原数量的调查》

作者: 邱艳, 杨海平, 查韦, 苗天红, 李立立, 章扬培

来源: 临床输血与检验 2007 年 4 月第 9 卷第 2 期

摘要: 目的分析中国人不同血清型 RhD 抗原数量是否存在差异。方法采用流式细胞仪检测 RhD 阴性、RhD 阳性、弱 D 型和 RhDdel 型红细胞表面 D 抗原数量。结果 RhD 阴性、RhD 阳性、弱 D 型和 RhDdel 型红细胞表面 D 抗原荧光强度分别为 $5.43\% \pm 2.11\%$, $99.28\% \pm 0.98\%$, $32.98\% \pm 15.63\%$ 和 $29.46\% \pm 9.88\%$ 。结论 4 种不同血清表现型的 RhD 抗原数量的差异有显著性,以 RhD 阳性的抗原数量最多, RhDu 次之, RhDdel 最少,但与 RhD 阴性相比仍有一定数量的抗原存在于红细胞膜上。

23. 《血液抗-D 抗体检测在 RhD 阴性患者输注 RhD 阳性同型红细胞中的效果分析》

作者: 何安聪

来源: 国际检验医学杂志 2017 年 5 月第 38 卷第 10 期

摘要: 目的研究 RhD 阴性患者输注与其血型相同的 RhD 阳性红细胞血液后,患者抗-D 抗体的水平。方法收集该院 2010 年 1 月至 2016 年 1 月输注 RhD 阳性同型红细胞的 20 例 RhD 阴性患者的临床资料分析其在输血前及输血后 10、20、30、60、90d 的抗-D 抗体水平及 RhD 阳性患者的效价。结果输注 RhD 阳性同型红细胞血液的 20 例 RhD 阴性患者,在输血后 90d 内有 6 例患者表现为 RhD 阳性,其中男性 RhD 阳性率为 25.0%(3/12)、女性 RhD 阳性率为 37.5%(3/8)。3 例 RhD 阳性的女性患者抗

-D 抗体效价分别为 35、278、508。**结论** RhD 阴性患者输注 RhD 阳性同型红细胞血液，可刺激机体免疫机制，产生红细胞表面抗-D 抗体，且部分 RhD 阴性患者的红细胞表型会发生改变。

24. 《117 名 RhD 阴性个体 RHD 基因序列分析》

作者：章旭，刘显智，李剑平

来源：中国输血杂志 2012 年 10 月第 25 卷第 10 期

摘要：目的了研究调查辽宁地区 RhD 阴性个体的分子机制及 RHD 基因的多态性。**方法**用间接抗球蛋白方法(IAT)确认 RhD 阴性个体，采用序列特异性引物-聚合酶链反应(PCR-SSP)扩增 RHD 基因特异性的外显子 1~10，测序分析 RHD 基因全长编码序列；同时用特异性 Rh 盒子进行 RHD 基因的纯合性测定。**结果**在 117 名 RhD 阴性个体中，84 例(71.80%)RhD 阴性个体完全缺失 RHD 基因，23 例(19.66%)RhD 阴性个体携带 RHD1227A 等位基因，8 例(6.84%)携带 RHD-CE-(2-9)-D2 融合基因，2 例(1.71%)携带 RHD711delC 等位基因。完全或部分含有 RHD 基因的个体均含有 RhC 抗原。**结论**辽宁地区 RhD 阴性个体的 RHD 基因具有丰富的多态性和不同的遗传背景，主要以 RHD 基因完全缺失为主，其次部分缺失和无缺失，并存在其他稀有基因型。

25. 《福建省 RhD 阴性个体 RHD 基因多态性》

作者：卓传尚，卓孝福，郭永建，王长青

来源：中国实验血液学杂志 2008；16(2)：435-438

摘要：为了探讨 RhD 阴性福建个体的 RHD 基因结构，设计 14 对序列特异性引物，应用 PCR-SSP 技术检测 104 名福建省 RhD 阴性献血者的 RH 基因型，并对部分样本进行吸收放散试验，同时对 2 例携带 RHD 基因 RhD 阴性样本进行 DNA 序列测定。结果显示，61.54%阴性福建个体完全缺失 RHD 基因 (RHD-/RHD-)，25.97%RhD 携带 RHD1227A 等位基因(其中 62.96%为 RHD+/RHD-杂合子，37.04%为 RHD+/RHD+纯合子)，8.65%携带 RHD-CE(2~9)-D 等位基因，1.92%携带 RHD710delC 等位基因；多数 RHD 基因缺失存在于 dce 单倍体中，发现 6 例 RHD 基因缺失存在于 dCe 单倍体(RH 基因型为 dce/dCe)中，2 例存在于 dcE 单倍体(RH 基因型为 dce/dcE)中；同时检测 8 个 RHD 基因外显子以及 RHD1227A 等位基因，以预测 RhD 表型的准确性明显高于单独检测某个 RHD 基因外显子的准确性($\chi^2=24.43$, $p<0.005$)。

26. 《海南汉族 RhD 阴性个体 RHD 基因研究》

作者：叶健忠，杨向萍，蔡于旭，唐秋萍

来源：中国输血杂志 2005 年 4 月第 18 卷第 2 期

摘要：目的探讨海南汉族 Rh 阴性献血者的 RHD 基因结构，为建立适合本群体的正确的 RHD 基因定型方法提供依据。**方法**采用常规盐水法和抗球蛋白法筛选 RhD 阴性献血者，通过吸收放散试验确定其中 RhDel，并采用 PCRSSP 技术分析其 RHD 基因存在情况，对存在全部外显子的个体进一步检测 RHD 内含子 2、10 和 RHD ψ 假基因。**结果**筛选获得的 106 名 RhD 阴性个体中，31 例(29.25%)为 RhDel，存在完整 RHD 基因；剩下 75 例中，67 例(63.21%)完全缺失 RHD 基因，8 例缺失部分 RHD 基因；存在全部外显子的 31 例 RhDel 个体均存在 RHD 内含子 2、10 而无 RHD ψ 基因。另外，在 1 例 ccdEe 样本中检测到外显子 1、3、4、6、7、9 及 10，仅缺少外显子 5。**结论**海南汉族 RhD 阴性群体中存在高比率的 RhDel，且所有 RhDel 样本均可检测到全部的 RHD 基因外显子；海南汉族真实 RhD 阴性个体的 RHD 基因呈多态性，缺失部分 RHD 基因的个体均未检测到 RHD 外显子 5，提示对本群体而言，特异性扩增外显子 5 在 RHD 基因定型中具有重要意义。

27. 《湖北汉族RhD阴性个体Rh表型及RHD基因多态性研究》

作者：沈钢，章俊华，张浩，石小玲，何鸣镛，陈图安，张庆武

来源：中国输血杂志2007年8月第20卷第4期

摘要：目的研究湖北人群Rh阴性个体RHD基因多态性的分布及血清学表型与RH基因型之间的关系。**方法**应用PCR-SSP技术检测湖北地区172名Rh阴性献血者的RHD基因外显子和RHCE基因。**结果**172例Rh阴性个体中，ccee表型98例、Ccee53例、CCee13例、CcEe6例、ccEe2例；172例Rh阴性个体中103例RHD基因外显子完全缺失、42例完整、27例为部分缺失者。吸收放散试验检测出39例RhD放散型。**结论**湖北汉族Rh阴性人群的RHD基因结构呈现多态性，携带D基因的吸收放散试验阴性个体中具有C抗原者比例较高，但亦有cc表型存在。

28. 《湖南省RhD阴性献血者D基因多态性研究》

作者：刘业英

来源：实用预防医学2009年6月第16卷第3期

摘要：目的血清学方法研究湖南省 133 名 Rh 阴性献血者 RHD 基因多态性的分布以及 RHD 基因组结构与血清学的关系。**方法**应用 PCR-SSP 技术检测湖南省 133 名 Rh 阴性献血者的 RHD 基因的第 2、3、

4、5、6、7、9、10 外显子、1227A 等位基因和 RHCE 基因的第 1、2 及 5 外显子，并分别检测二者的第 4 内显子。并对部分样本进行吸收放散实验。**结果** 133 例 Rh 阴性个体中，ccee 表型 69 例、Ccee57 例、CCee4 例、CcEe3 例、ccEe1 例；133 例 Rh 阴性个体中 85 例 RHD 基因所检测的 8 个外显子完全缺失(63.9%)、24 例完整(18.05%)、16 例部分缺失(12.03%)。吸收放散试验检测出 24 例 RhD 放散型。**结论**湖南省 Rh 阴性人群的 RHD 基因结构呈现多态性，常规血清学鉴定的 RhD 阴性者中存在较高比例的 RhD 放散型(Del 型)，且部分带有完整的 RHD 基因。携带 D 基因的吸收放散试验阴性个体中具有 C 抗原者比例较高，但亦有 cc 表型存在。

29. 《宁夏回族RhD阴性人群RhD基因多态性研究》

作者：刘建成，邵峰，步晓筠，杨洁

来源：实用预防医学2009年6月第16卷第3期

摘要：目的了解宁夏回族 Rh 阴性人群的 RhD 基因多态性特点。**方法**采用盐水法和抗人球蛋白法筛选 Rh 阴性样本，通过吸收放散法确定 Del 型，同时利用 PCR-SSP 方法分析 RhD 基因 10 个外显子。**结果** 286 例 RhD 阴性样本中 91 例 (31.8%) 为 DeL 型。DeL 型中具有完整的 RhD 基因 67 例 (73.6%)，部分外显子缺失 24 例 (26.4%)。其它 195 例 RhD 阴性样本中完全缺失 RhD 基因 165 例 (84.6%)，部分外显子缺失 30 例 (15.4%)。对照组 50 例 Rh 阳性样本均检测到完整的 RhD 基因。Del 型和真实的 RhD 阴性外显子基因型多态性分布均符合 Hardy-Weinbeg 平衡定律($P>0.05$)。**结论**宁夏回族 RhD 阴性人群中 DeL 型占有约三分之一，RhD 基因外显子分布存在复杂的多态性。

30. 《山东汉族RhD阴性个体基因多态性研究》

作者：浑守永

来源：检验医学2009年7月第24卷第7期

摘要：目的研究山东汉族人群 RhD 阴性个体 RhD 基因多态性。**方法**采用标准血清学方法和抗球蛋白实验筛选 Rh 阴性个体；对 Rh 阴性个体再用吸收放散实验确定 DEL 型。运用多重聚合酶链反应(PCR)方法分析 RhD 阴性个体基因存在情况。**结果** 67 例 Rh 阴性个体中 DEL 型 16 例，占 Rh 阴性个体的 23.88%，其 6 个 RhD 基因特异性的第 3、4、5、6、7、9 外显子全部存在；剩下 51 例 Rh 阴性个体中 1 例缺失第 5 外显子，其余 50 例 6 个外显子全部缺失。**结论**山东汉族人群 RhD 阴性个体中存在一定比例的 DEL 型，且所有 DEL 样本均具有完整的 RhD 基因，在排除 DEL 型后的 RhD 阴性个体可能携带 RhD 基因，但其比例较低。

31. 《天津地区RhD阴性人群基因多态性分析》

作者：刘纯，刘伟

来源：广东医学2012年10月第33卷第20期

摘要：目的研究天津地区正常 RhD 阴性人群的基因型。方法应用 PCR—SSP 方法检测 RhD 阴性 DNA，来判断 RhD 的基因分型结果，对于血清学和基因学检测结果不相符的标本，进行比较分析。结果经间接抗人球蛋白试验检出的 RhD 阴性血液样本 100 例，通过 PCR—SSP 方法对其进行基因学检测，结果检出 16 例 1227DEL 型，9 例 RhD—CE(2—9)—D 型，3 例弱 D15 型，2 例 RhD 阳性，其余 70 例基因学检测结果均为 RhD 阴性。结论中国人 Rh 血型基因具有多态性，PCR—SSP 方法在鉴定 Rh 血型基因型中具有非常重要的临床意义。

32. 《新疆汉族与维吾尔族 Rh 阴性 D 基因多态性的初步研究及比较》

作者：居敏，宋小川，刘斌，李玉娇，许洁，颜芝

来源：临床和实验医学杂志2017年4月第16卷第7期

摘要：目的探讨比较新疆汉族与维吾尔族 Rh 阴性 D 基因多态性的特征及分布特点。方法选取 2013 年 10 月至 2015 年 10 月 222 例维吾尔族 Rh 阴性血液供者(来院患者和献血员)和 90 例汉族 Rh 阴性血液供者(来院患者和献血员)进行 D 基因多态性分析，分别作为汉族组和维吾尔族组，Rh 血型采用血清学盐水介质法测定，RhD 阴性个体检测 Rh 血型血清学表型，采用 PCR-SSP 方法分析 Rh 阴性 D 基因分型。对两组研究对象的血清学表型、D 基因型分布频率。结果两组研究对象的 Rh 血型血清学表型(CCEE 和 CCee)的分布频率之间没有显著差异(P0.05)；汉族组的 Rh 血型血清学表型的 CcEe、Ccee、ccEE 的分布频率明显高于维吾尔族组(P0.05)；汉族组的 Rh 血型血清学表型的 ccEe、ccee 的分布频率明显高于维吾尔族组(P0.05)；汉族组的 Rh 阴性 D 基因分型中，DEL、弱 D15、RhD-CE(2-9)-D、DVIII、DVa(hus)分布频率明显高于维吾尔族组(P0.05)；维吾尔族组的 d/d 分布频率明显高于汉族组(P0.05)。结论汉族和维吾尔族 Rh 血型血清学表型和 Rh 阴性 D 基因分型存在一定的差异，可以区分汉族和维吾尔族之间 Rh 血型分布。

33. 《云南地区RhD阴性个体RHD基因研究》

作者：蔡玲君，丁权，陈文仙，郭兆富，和苗，陈玲

来源：中国输血杂志2006年12月第19卷第6期

摘要：目的了解云南人群 Rh 阴性的 RHD 基因结构特点、多态性和遗传规律。方法采用常规盐水法和抗球蛋白法筛选 Rh 阴性样本，通过吸收放散试验确定其中的 DEL，采用 PCR-SSP 技术分析外显子存

在情况。**结果** 92 名 Rh 阴性个体中 19 例(20.65%)为 DEL, 其中 2 例(10.53%)部分缺失, 17 例(89.47%)存在完整的 RHD 基因; 其余 73 例中 65 例(89.04%)完全缺失 RHD 基因, 8 例(10.96%)缺失部分 RHD 基因; 19 例 DEL 样本中有 17 例、对照组 30 例 Rh 阳性样本均检测到 10 个外显子。**结论** 云南 Rh 阴性人群存在一定比例的 DEL; 云南群体 RHD 基因外显子具有多态性。

34. 《四川部分地区汉族献血者RhD阴性个体RHD基因多态性研究》

作者: 李宏, 宋宁, 邓永福, 王胜蓝, 生丽雅, 易永忠, 蔡兰, 田力, 姚志强, 陈静娴

来源: 中国输血杂志2012年2月第25卷第2期

摘要: 目的了解四川部分地区汉族献血者中 RhD 阴性个体的基因多态性。**方法**用 PCR-SSP 及基因序列测定技术对经间接抗球蛋白试验(IAT)、吸收放散试验检测 RhD 均为阴性的标本分型。**结果** 69 例 RhD 真正阴性的标本中, 包括 RHD 基因完全缺失个体 54 例、13 例携带 RHD-CE(2-9)-D 等位基因、1 例携带 RHD-CE(8-9)-D 等位基因、1 例携带 RHD(711delC)等位基因。**结论** 四川部分地区汉族献血者 RhD 阴性个体分子机制具有丰富的多态性和不同的遗传背景, 主要为 RHD 全缺失为主, 其次为 RHD-CE(2-9)-D 型, 并存在其他稀有的基因型。

35. 《RhD抗原变异体及其在输血中的意义》

作者: 赵桐茂

来源: 中国输血杂志2008年1月第21卷第1期

RhD 变异体个体的输血策略: 弱 D 型个体带有完整的 D 抗原, 一般认为他们对阳性血液和阳性胎儿的免疫刺激不会产生抗-D。早期资料表明, 90%的白人弱 D 型不产生抗-D, 因此可以作为阳性供者, 也可以接受阳性血液, 如果生产 RhD 阳性婴儿, 也不必给产妇注射抗-D 免疫球蛋白。但是最近发现例外, 在亚洲人群中最常见的弱 D15 型以及白人中最常见的弱 D1 型, 都可以产生抗-D, 因此相应的输血策略需要重新评估。部分 D 型血液能够刺激阴性个体产生抗-D, 因此作为血液供者时被标记为阳性, 由于他们的抗原缺失某些表位, 在接受输血时被作为阴性处理, 他们将输注阴性血液。如果是产妇, 在生产阳性婴儿后将给予注射抗-D 免疫球蛋白。如果单独使用抗-D 血清鉴定抗原, 表型通常被鉴定为阴性, 因此在亚洲人群中, 采用基因分型技术筛选变异体并建立相应的输血策略实有必要。

目前商业性的 RhD 分型试剂还不能检测全部变异体, 比如美国批准的单克隆抗-D 分型试剂, 与白人中常见的部分表型红细胞不发生反应。为了避免变异体被误定为阴性, 采用 DNA 分型技术筛选检测变异体已成为一项辅助工具。

36. 《人类Rh血型研究进展与临床应用》

作者：申卫东(综述)，唐秋民(审校)

来源：中国临床新医学2009年1月第2卷第1期

Rh 血型是输血医学重要的血型系统，由 Rh 血型不合引起的溶血性输血反应及新生儿溶血病一直以来倍受临床医生的重视。运用血型血清学技术检测 Rh 血型，在预防新生儿溶血病和保障临床输血安全中均起了重要作用。然而由于血清学技术受实验温度、离心条件、抗血清试剂效价及特异性等诸多因素的影响，因而具有一定的局限性；因此利用 Rh 血型分子生物学技术已日益受人们的重视。RH 基因分型在临床中的实际应用主要包括：(1)疑难血型鉴定：对于因 IgG 包被直接抗人球蛋白试验阳性、或具有多凝现象的病人标本，做 Rh 血型鉴定是一件令血清学工作者十分头痛之事，其不仅需要花费大量的时间和试剂去做试验，而且结果往往不尽人意，还会因耗时太长延误重病患者的抢救。利用分子生物学技术进行 RH 基因检测，可以快速准确地得到患者的 Rh 血型。(2)慢性长期输血患者、近期输过血或体内存在供者血细胞者：此类患者有时很难确定其表型，因此在 DNA 水平上进行 RHD 基因定型就成为标准血清学定型的必要补充。(3)D 抗原弱阳性个体的弱 D 或部分 D 型的鉴定：我国及世界上大部分国家通常将弱 D 表型供者视为 D 阳性，而将弱 D 表型受血者视为 D 阴性。由于有些弱 D 型可引起输血反应或胎母同种免疫反应，因此有作者认为需将血清学检测、RHD 基因定型和 RHD 基因序列分析相结合。(4)新生儿溶血病的产前诊断：新生儿溶血病(HDN)是发生在胎儿和早期新生儿的一种自限性免疫溶血性疾病，该病由母婴血型不合引起，常导致早期流产，轻者出现贫血、水肿、肝脾肿大，严重者造成新生儿死亡或发生核黄疸产生后遗症。Rh 血型 D 抗原是引起中等和严重程度的 HDN 的最常见原因。因此如何预防和治疗 HDN 是一个很重要的临床问题，这对优生优育、提高人口素质具有重要的现实意义。当一个带有抗 D 抗体的 D 阴性母亲妊娠时，知道其胎儿的 D 表型非常重要，如果胎儿是 D 阴性那就不存在发生新生儿溶血病的风险，且无需做进一步的创伤性检测；如果胎儿是 D 阳性，则必须对妊娠的风险做适当的处理；因此鉴定胎儿血型对产前诊断 HDN 有积极的作用。运用血清学定运用血清学定型只能检测是 Rh 阳性还是 Rh 阴性，使用红细胞凝集试验检测 HDN 母亲血清中的抗 D 抗体的效价，对 HDN 产前诊断只能提供间接信息。随着 RH 血型基因型的分子基础被进一步阐明，在 DNA 水平上检测 RHD 血型成为可能。通过直接对羊水或羊水中提取的 DNA 进行扩增，可对 RHD 阴性妇女所妊娠胎儿的 RHD 血型进行产前诊断。但由于子宫穿刺术容易造成胎儿损伤，并且在穿刺过程漏出的胎儿红细胞会进入母体血循环，发生胎儿出血，进一步刺激母体 IgG 抗体水平的增高。因此，目前国外研究的重点已转移到从母体外周血样中分离出胎儿红细胞或从血浆中得到胎儿 DNA/RNA。

总之，结合血型血清学的方法，Rh 血型分子生物学技术是一个重要的检测工具，它可以解决临床上一些疑难血型鉴定等问题，有助于 HDN 的控制，提高输血安全和患者的治疗效果。