

本期导读

秀鹏生物 RhCcEe 血型专刊 2017 年 10 月

1. 《地中海贫血患者 Rh 配型输血研究》	3
2. 《5050 名患者 Rh 分型及不规则抗体鉴定结果分析》	8
3. 《RhC、RhE 抗原相合在输血安全中的临床价值分析》	9
4. 《Rh 血型系统在安全输血中的意义》	11
5. 《多次输血患者 Rh 抗原分型检测的重要性》	11
6. 《121 例溶血性输血反应不规则抗体特异性分析》	12
7. 《100 例山东汉族人 Rh 血型系统 RHD 基因和 RHCE 基因结构分析》	13
8. 《RHCE 基因和 RhCcEe 抗原研究进展》	14
9. 《RhCE 血型基因分型与血清学分型的比较研究》	15
10. 《RhCE 抗原基因分型和表型不一致与等位基因变异的相关性研究》	15
11. 《Antibody screening in repeatedly transfused patients》	16
12. 《重型 β 地中海贫血患者突变基因及同种血型抗体频率调查》	17
13. 《Red cell alloimmunization in a diverse population of transfused patients with thalassaemia》 ...	18
14. 《Prophylactic RhCE and Kell antigen matching: impact on alloimmunization in transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndromes》	18
15. 《The Rh blood group system: a review》	19
16. 《Rh 非 D 型新生儿溶血病 11 例》	20

17. 《Rh 血型系统在新生儿溶血病诊断中的意义》	20
18. 《抗-c 抗体引起的 Rh 新生儿溶血病一例》	20
19. 《母婴 Rh(c)抗原不合引起新生儿溶血病 1 例》	21
20. 《新生儿溶血病 Rh 血型分布与临床分析》	21
21. 《四川地区无关供血者 Rh 血型系统基因分型及结果分析》	22
22. 《Rh血型C、c、E、e抗原在南京地区部分人群分布频率》	23
23. 《洛阳献血者 Rh 抗原和基因多态性研究》	23
24. 《Blood group genotyping in multi-transfused patients》	24
25. 《The role of molecular immunohematology in sickle cell disease》	25
26. 《Red blood cell minor antigen mismatches during chronic transfusion therapy for sickle cell anemia》	25
27. 《The experience of extended blood group genotyping by next-generation sequencing (NGS): investigation of patients with sickle-cell disease》	26
28. 《High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched minority donors》	26
29. 《Allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction for the determination of Rh C/c and Rh E/e antigens in thalassaemic patients》	27

RhCcEe 血型专刊

(翻译, 编辑: 艾丽萍)

1. 《地中海贫血患者 Rh 配型输血研究》

作者: 党鑫堂, 伍昌林, 彭进, 吴筱莹, 李妙珊, 朱奕, 邵超鹏

来源: 中国输血杂志 2015 年 7 月第 28 卷第 7 期

摘要: **目的** 国外有报道采用基因分型技术为长期输血患者进行 Rh 配型输血仍检出较高的同种抗体发生率, 本文探讨我国地中海贫血患者 Rh 配型输血的可行性。**方法** 对 40 例 β -地中海贫血患者采用 PCR-SSP 技术进行 RhCcEe 基因分型, 连续至少 3 个月采用微柱凝胶卡方法筛选供者进行 CcEe 同型输血, 其中 1 例 ccEe 和 2 例 ccEE 表型患者, 当供者筛选超过 30 袋无同型血时, 输注 CcEe 或 CCee 供者红细胞。3 个月后对所有患者均进行卡式 CcEe 检测, 并与配型前的检测结果进行比较。**结果** 37 例完全同型输血的患者, 卡式 CcEe 结果清晰, 无自体细胞与供者细胞分层现象, 提示基因分型结果未发生假阳性或假阴性。另外 3 例无法每次同型输血的患者, 卡式检测 CcEe 抗原时, 再次出现分层现象, 结果无法阅读, 但对比基因分析结果, 可清楚判断患者近期所输供者血的 CcEe 表型与实际相符。**结论** RhCcEe 基因分型技术可应用于长期依赖输血的地中海贫血患者进行 Rh 配型输血, 地贫患者的自身细胞并不影响微柱凝胶卡 RhCcEe 血清学检测。

关键词: 地中海贫血, RhCcEe, Rh 配型输血

随着“高量输血+有效去铁”治疗方案的推广, 我国 β -地中海贫血患者的存活期较以往大大延长, 大多数地贫患者均可长期正常生活, 也因此 1 个新的问题显得更加突出——红细胞血型同种抗体。国外有报道 15%-40% 的 β -地中海贫血患者或其它慢性输血患者可检出同种抗体, 我国大陆报道约 5%-10%, 台湾省和香港特别行政区分别报道约 10% 和 23%, 在这些同种抗体中, 约 60%-80% 与 RhCcEe 抗原相关, 因此欧美许多国家 20 年前即已开展 Rh 配型输血, 我国目前尚未见系统报道。然而 2013 年美国 Chou 等报道, 通过 PCR-SSP 基因分型技术对长期输血患者进行 Rh 配型输血后, 在费城儿童医院发现已配型输血的患者中有 45% 的非洲籍美国人检出 Rh 抗体, 作者归纳主要原因是基因分型的假阳性结果。国内 RhCcEe 基因分型相关研究有报告, 无论是检测 RHCE 基因第 1 外显子或第 1 内含子, C 抗原测定都有 4% 左右的错误率, 其他抗原 cEe 假阳性或假阴性少见。我们通过基因分型检测 RhCcEe 抗原并进行配型输血, 探讨其可行性, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 标本 在排除 AB 型、RhD(-)表型、直抗阳性、以及血清不规则抗体筛选阳性、药物性抗体阳性的前提下，挑选 40 名 A、B 或 O 型 RhD(+)并长期定期在深圳市第二人民医院进行输血治疗的 β -地中海贫血患者，作为本文的研究对象，通过会议形式告知患者家属，知情同意和自愿报名。最终名单，患者年龄 5-25 岁，男 23 人，女 17 人，父母双方或其中一方籍贯为广东或广西，其中 1 人为福建，均为汉族。全部患者均经本院血液病研究所基因检测确诊为 β -地中海贫血（中型），以往每次输血前的血清不规则抗体检测均为阴性，留取患者交叉配血标本的红细胞用于血清学 CcEe 抗原检测，留取标本的白膜层用于提取基因组 DNA，方法使用常规试剂盒，DNA 提取后-40℃保存备用。

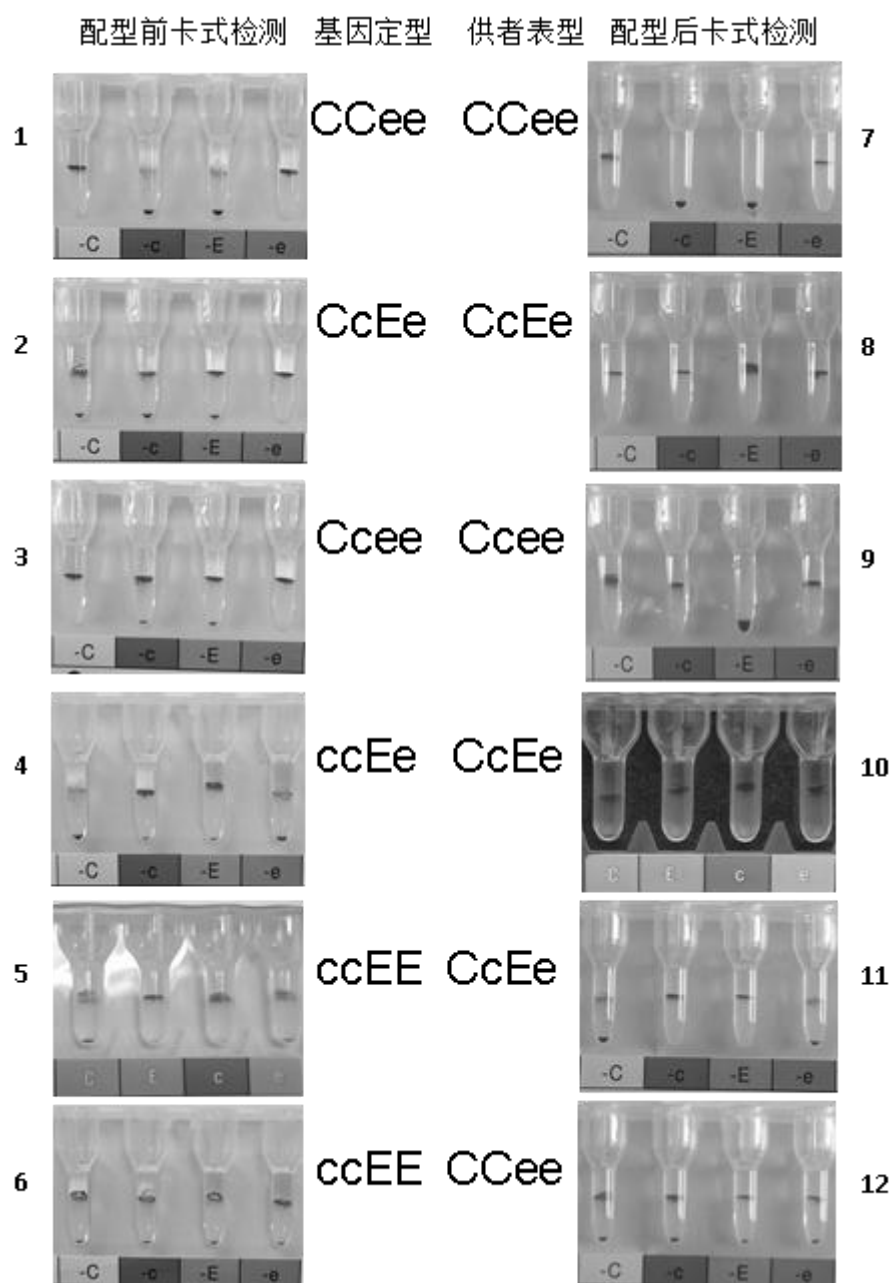
1.2 血清学检测 输血前交叉配合试验、不规则抗体筛选、盐水法测定 RhCcEe 抗原等，均执行《中国输血技术操作规程（血站部分）》的实验室操作规范。不规则抗体筛选试剂红细胞常规使用国内试剂（长春博讯生物技术有限公司，批号 20140509），本文增加进口筛选细胞（Diagnostic Grifols，批号 9016.10）；RhCcEe 抗原测定（单克隆抗体 IgM 试剂，Dominion Biologicals，批号 517057）和微柱凝胶 Rh 血型抗原检测卡（长春博讯生物技术有限公司，批号 20140113 或 Diagnostic Grifols，批号 13013.01），均按照试剂使用说明书并使用其提供的专用离心机操作。

1.3 RhCcEe 基因分型 所有患者 DNA 标本均寄送天津秀鹏生物技术开发有限公司进行 RhCcEe 基因分型，对照标本使用以往经 RHCE 序列分析和血清学抗原测定为 C+c+E+e+的库存 DNA 标本。

1.4 Rh 配型输血 本研究观察期限为 3 个月（2014 年 8 月 1 日-11 月 15 日），40 名患者的配型输血时间均为每周六，办理临时住院，实验室采用微柱凝胶检测卡方法筛选供者，供者血均来自深圳市血液中心，且均为 7-9d 以内的“新鲜血”，根据患者的输血量筛选 1-2 袋与其 CcEe 分型结果均同型的悬浮滤白红细胞，患者输血完毕后，记录输血过程有无不良反应，并询问上次输血后 2 周内有无异常。少数稀有 RhCcEe 表型的患者，当筛选完全部库存供血后，仍无法找到相同甚至相合的血液时，提供其它 CcEe 表型供者血液。

2 结果

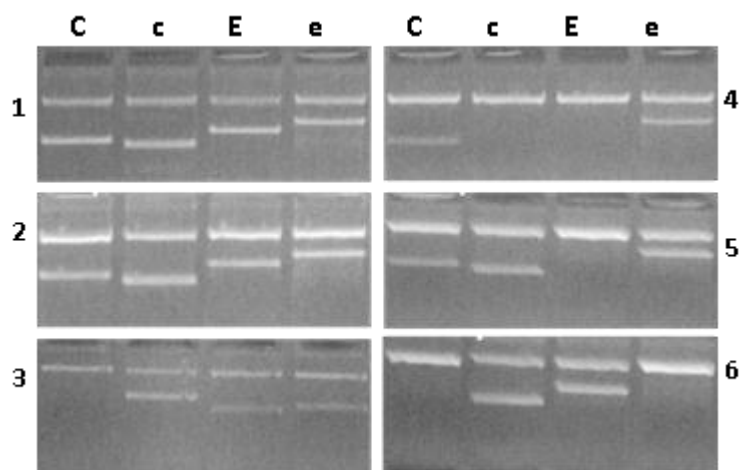
2.1 RhCcEe 分型 对 40 例患者进行盐水法检测，几乎所有标本的 CcEe 抗原结果均呈不同程度的混合凝集现象；为更加直观地显示混合外观现象，同时采用微柱凝胶卡方法进行检测，结果如图 1，在同一微柱凝胶孔中“4+凝集”（上层）与下方“无凝集细胞”并存，无 1 例标本可完整判断 4 个 CcEe 抗原的定型结果；综合所有标本，c 和 E 抗原的“分层”现象较 C 和 e 抗原更普遍，可能与中国人 C 和 e 抗原阳性的比例显著高于阴性表型，而 c 和 E 抗原阳性与阴性表型相差不大有关，这也说明中国人 Rh 配型输血首选应该是 Rhc 和 RhE 抗原，而不是国外常选的 C 和 E 抗原。



“基因定型”为患 RhCcEe 基因检测结果，“供者表型”指配型期间患者输入的“悬浮滤白红细胞”供者的 Rh 表型；1-6 为患者配型前 Rh 表型的卡式检测结果，同一基因分型结果的患者，配型前卡式检查出现的分层现象因上次或上几次输血供者 Rh 表型不同，会有不同的分层图像，图中仅列出其中 1 种分层现象；6-12 为不同表型的患者配型输血后的 Rh 表型的卡式检测结果

图 1 RhCcEe 配型前后微柱凝胶卡检测结果对比

RhCcEe 基因分型结果分别见图 2 和表 1，与文献报道的汉族健康个体的 CcEe 表型的比率相近，均以 CCee 和 CcEe 表型为主，健康个体 2 种表型的比率之和为 84.3%，地中海贫血患者 2 种表型比例之和为 85.0%（表 1）。



“C、c、E、e”分别表示 RhCcEe 抗原；1 为 RhCcEe 抗原全阳性对照标本，2-6 分别为不同表型的患者（2: CcEe、3:ccEe、4: CCee、5: Ccee、6: ccEe）

图 2 RhCcEe 表型 PCR 基因检测结果

表 1 地贫患者与健康人 RhCcEe 表型对比(n, %)

	地贫患者	健康人
CCee	25 (62.5)	29 431 (51.8)
CcEe	9 (22.5)	18 431 (32.5)
Ccee	3 (7.5)	4 379 (7.7)
ccEe	1 (2.5)	1 239 (2.2)
ccEE	2 (5.0)	2 263 (4.0)
ccee	0	223 (0.40)
CCEE	0	7 (0.01)
CcEE	0	121 (0.2)
CCee	0	705 (1.2)
合 计	40(100)	56799 (100)

2.2 Rh 配型输血 40 例患者中，10 例每月输血 2 次，每次 2 袋 2U 悬浮滤白红细胞；25 例每月输血 1 次，每次 1 袋 2U 悬浮红细胞；其余 5 例每月输血 1 次，每次 1 袋 1U 悬浮红细胞。所有 40 例患者中，37 例患者在本研究期限内每次输血均提供了 CcEe 表型完全相同的供者红细胞，但 1 例 ccEe 和 2 例 ccEE 表型患者，3 人均均为每月输血 1 次，在他们的 3 次输血中各有 2 次无法筛选到同型供者，前者 ccEe 表型 2 次均给予 CcEe 型供者的红细胞，后者 ccEE 表型 1 人 2 次均给予 CcEe 型供者血，

另 1 人 2 次均给予 CCee 型供者红细胞。所有患者均未报告输血不良反应，输血后亦无发生异常的报告。

2.3 RhCcEe 表型复查 患者血清学 CcEe 表型微柱凝胶卡方法复查，结果见图 1，25 例 CCee 型和 9 例 CcEe 以及 3 例 Ccee 常见表型且每次均能同型输血的患者，卡式检测均出现清晰的结果，由于患者自身红细胞始终占有一定的比例，微柱凝胶卡未再出现分层现象，提示患者配型前的 CcEe 基因分型结果正确，也提示地贫患者的自身红细胞并不影响血清学微柱凝胶卡检测。图 1 的 4~6 和 10~12 的结果显示 1 例 ccEe 型和 2 例 ccEE 型患者因无法筛选到同型供者红细胞输血，复查结果依然无法判读，但有意思的是，1 例 ccEe 型患者可以通过配型后的卡式检测结果明显地阅读到患者此前接受了 CcEe 型供者的血细胞，因为只有 C 检测孔出现分层现象，而 cEe 的测定结果清晰；另 2 例 ccEE 型患者，则可根据结果阅读到近期分别接受了 CcEe 和 CCee 型供者的红细胞，前者 Ce 测定孔出现分层，cE 抗原结果清楚，后者则 CcEe 4 个孔均出现分层现象。

3 讨论

国外许多国家均开展了为长期输血患者进行 Rh 配型服务，我们对 40 例地贫患者进行 RhCcEe 基因分型，然后按照基因分型的结果进行 Rh 配型输血，连续 3 个月配型输血后，再对患者 Rh 表型进行血清学复查，结果除 3 例无法判读外，其余 37 例血清学复查结果均提示基因分型结果具有正确性，即使该 3 例患者配型后 CcEe 血清学结果依然无法判读，但根据输血记录、CcEe 基因分型结果和配型输血后的血清学结果比对，仍然能看出这 3 名患者的基因分型结果具有可靠性，所以本文结果充分提示 RhCcEe 基因分型技术对中国人而言具有较高的正确率。但按照国内周华友等和国外 Tax 等的报道，基因方法测定 C 抗原时，PCR 测定第 2 外显子容易产生假阳性，而检测第 2 内含子的 109bp 的插入片段时又容易产生假阴性，虽然我们并未观察到假阳性或假阴性结果，但我们认为当用作临床输血 Rh 配型时，从输血安全角度出发假阴性可以接受，因此检测 RHCE 基因第 1 内含子做 CcEe 基因分型更好。

另外，尽管本文配型输血实践中有 1 例 ccEe 和 2 例 ccEE 表型患者难于寻找同型的供者，但是当配型患者人数足够多时类似问题将并不突出，而且偶尔 1 次未能同型输血要远比每次不能同型输血效果好许多。同时我们认为，配型 Rh 输血在目前的经验积累阶段，最好筛选 CcEe 完全同型的供者血液，即使患者 CcEe 抗原全阳，有待进一步观察中国人的有关数据，建立中国人特异性的、更可靠的基因分型方法后，方可评估相应的配型方案，并且可根据中国人常见抗体的特异性以及配型的实际可行性，RhCcEe 配型输血还可以结合其他血型抗原，可使长期输血更加安全。

最后，我们在配型过程中发现，采用微柱凝胶技术测定 CcEe 抗原要比盐水试管法灵敏，王志红等报道 942 例标本中，有 36 例盐水试管法检测出现弱反应或极弱反应，而我们使用微柱凝胶卡至少筛

选测定了 300 多例供者的 CcEe 表型，却未观察到 1 例 CcEe 抗原弱凝集现象，当然用于科学研究时，盐水试管法更容易发现弱阳性或特殊 CcEe 表型的标本。

2. 《5050 名患者 Rh 分型及不规则抗体鉴定结果分析》

作者：于天华，遇红梅，梁海英，许婷婷，刘铁梅

来源：中国输血杂志 2012 年 8 月第 25 卷第 8 期

摘要： 目的 分析 5050 名患者 Rh 抗原检测及不规则抗体鉴定结果，探讨输血前 Rh 分型的重要性。

方法 采用国产微柱凝胶检测卡对 5050 名待输血患者进行 Rh 抗原分型，并进行抗体筛选及鉴定。**结果** 5050 名患者共检出 Rh(D)阳性 5030 例，Rh 血型抗原表现型分布 DCe(2304 例) > DCCeE(1948 例) > DcEe(296 例) > DCce(279 例) > DcE(162 例) > DCEe(28 例) > Dce(8 例) > DCCe(5 例)；检出 Rh(D) 阴性 20 例，表现型分布 CcE(6 例) > Cce(5 例) > ce(5 例) > cE(2 例) > Ce(2 例)。D、C、c、E、e 抗原频率分别为 99.60%、90.63%、53.78%、48.46%、96.53%。共检出抗体 70 例，Rh 系统 49 例占 70% (49/70)，其中抗-E 21 例占 30.00% (21/70)，抗-c 12 例占 17.14% (12/70)，抗-C 9 例占 12.86% (9/70)，抗-D 5 例占 7.14% (5/70)，抗-cE 与抗-Ce 各 1 例分别占 1.43% (1/70)；MNSs 系统抗体 7 例均为抗-M 占 10% (7/70)；冷凝集素 6 例占 8.57% (6/70)；Lewis 系统 4 例占 5.71% (4/70)，抗-Le^a 3 例占 4.29% (3/70)，抗-Le^b 1 例占 1.43% (1/70)；Duffy 系统 4 例均为抗-Fy^a 占 5.71% (4/70)。**结论** 输血前常规检测 Rh 抗原对指导临床输血，从源头上减少除抗-D 外的 Rh 抗体引起的输血反应具有重要意义。

鉴于中国人 E、c 抗原频率分布阴阳性接近的特点，在受血者与献血者前述抗原均未知情况下输血，使得 Rh(E)、Rh(c) 阴性受血者产生同种免疫的可能性大大增加，如我们的结果所示抗-E 及抗-c 成为了最常见的 Rh 血型抗体。值得注意的是，除抗原分布频率外，引发溶血性疾病的抗体发生率与各种红细胞免疫原性的强度也有密切关系。据文献报道，1 次随机输血后产生抗体的机会 = 抗原阳性频率 × 抗原阴性频率 × 该抗原免疫原性，根据我们所得 Rh 系统 5 种抗原频率计算，1 次随机输血后产生抗-c (0.0051)、抗-E (0.004 2) 的机会预期均大于抗-D (0.0020)，与本试验检测结果相符。无论如何，抗-E、抗-c 接受免疫产生抗体的机会在中国人群中预期都要高于抗-D，这一结论与前述国内大量检测结果亦与本研究相符，也与中国人 Rh 抗原分布频率具有一致性。由此也说明，仅仅对 Rh(D) 抗原进行常规检测是远远不够的，同预防抗-D 一样，输血前应对患者和献血者常规检测 Rh 系统 Rh(E)、Rh(c) 等血型，对二者 Rh 血型抗原准确分型，实现 ABO、Rh 系统的相容性输血，从源头上降低抗-E、抗-c 等 Rh 抗体的发生率，才能避免临床实践中因为 Rh 系统抗原不明引起的反复交叉配血不和造的贻误输血时机及时挽救患者生命。

表 1 5 050 名患者 Rh 血型分布

抗-D	抗-C	抗-c	抗-E	抗-e	表现型	n (%)
+	+	+	+	0	DCcE	5 (0.10)
+	+	0	+	+	DCEe	28 (0.55)
+	+	+	0	+	DCce	279 (5.52)
+	0	+	0	+	Dce	8 (0.16)
+	0	+	+	+	DcEe	296 (5.86)
+	0	+	+	0	DcE	162 (3.21)
+	+	0	0	+	DCe	2 304 (45.62)
+	+	0	+	0	DCE	0 (0)
+	+	+	+	+	DCcEe	1 948 (38.57)
0	0	+	0	+	ce	5 (0.10)
0	+	0	0	+	Ce	2 (0.04)
0	+	0	+	0	CE	0 (0)
0	0	+	+	+	cEe	0 (0)
0	+	+	0	+	Cce	5 (0.10)
0	+	0	+	+	CEe	0 (0)
0	+	+	+	0	CcE	6 (0.12)
0	0	+	+	0	cE	2 (0.04)
0	+	+	+	+	CcEe	0 (0)
合计						5 050 (100)

表 2 5 050 名患者 D、C、c、E、e 抗原及基因频率

	D	C	c	E	e
抗原频率 (%)	99.60	90.63	53.78	48.46	96.53
基因频率	0.936 8	0.684 2	0.315 8	0.282 1	0.717 9

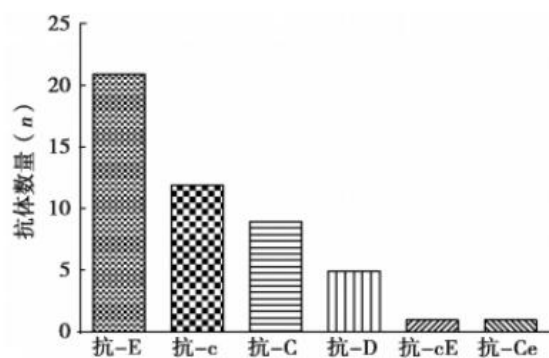


图 1 5 050 名患者血清中 Rh 血型系统抗体分布

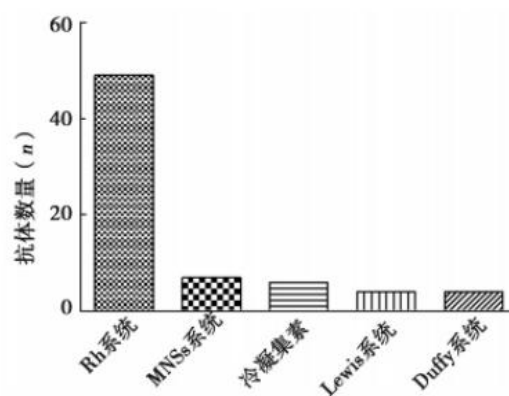


图 2 5 050 名患者抗体特异性分布

3. 《Rhc、RhE 抗原相合在输血安全中的临床价值分析》

作者：陈瑞明

来源：赣南医学院学报 2014 年 2 月第 34 卷 第 1 期

摘要：目前临床上输血治疗作为抢救患者生命的一种重要手段，在输血过程中一般要求 ABO 血型同 Rh 血型中的 D 抗原配合。近年来临床上对 Rh 抗原所导致的免疫性输血反应以及新生儿溶血病均进行了成功预防，在实施输血的过程中人们认识到 Rh 抗原的重要性。为提高输血的安全性，笔者对 Rhc、RhE 抗原相合在输血安全中的临床价值进行了评价分析，对 96 例不规则抗体患者的 Rhc、RhE 抗体及 3000 份自愿无偿献血者 Rhc、RhE 原分布情况进行了统计分析。结果发现，不规则抗体以抗-c、抗-E 所占比例较其他抗体高，且差异存在统计学意义($P<0.05$)；本次研究中还对 3000 份自愿献血者的 Rhc、RhE 抗原与 ABO 血型分布情况进行了检测，结果发现 Rhc + E +、Rhc-E-两种类型所占比例较 Rhc + E-、Rhc-E + 两种类型高，差异存在统计学意义($P<0.05$)，因此在输血过程中，掌握好 ABO 血型中 Rhc、RhE 抗原及抗体的分布情况，对于输血安全具有重要的临床意义，实施科学的 Rhc、RhE 抗原相合可以提高输血的安全性和可行性。

表 1 96 例不规则抗体患者的 Rhc、RhE 抗体分布情况

抗体类型	病例数	百分比/%
抗-C	6	6.25 [#]
抗-c	23	23.96
抗-E	36	37.50
抗-e	7	7.29 [#]
抗-D	15	5.21
其他	9	19.79
合计	96	100.00

注：#与抗-c、抗-E 比较差异显著， $P<0.05$

表 2 3000 份自愿献血者的 Rhc、RhE 抗原与 ABO 血型分布情况 例（%）

血型	Rhc+E+	Rhc-E-	Rhc+E-	Rhc-E+	合计
A	424	363	108	23	918 (30.60)
B	454	365	73	13	905 (30.17)
O	402	381	89	7	879 (29.30)
AB	156	113	28	1	298 (9.33)
合计	1436 (47.87)	1222 (40.73)	298 (9.93)	44 (1.47)	3000 (100.0)

注：#与 Rhc+E+、Rhc-E-比较差异显著， $P<0.05$

4. 《Rh 血型系统在安全输血中的意义》

作者：何路军，石翠英，乔芳，田亚娟，刘敬闪，赵志弘

来源：中国生物制品学杂志 2010年2月 第23卷 第2期

摘要：**目的** 研究配血不合患者血样中不规则抗体的分布特征，确定Rh血型系统在安全输血中的意义及输血策略。**方法** 采用盐水介质法、聚凝胺试验、抗人球蛋白试验和木瓜酶试验对2007年1月-2008年12月来河北省血液中心申请疑难配血的153例患者血样进行血型鉴定、抗体筛查和特异性鉴定及交叉配血试验。**结果** 153例受血者血液中，有134例存在不规则抗体，其中Rh系统免疫抗体68例（占50.75%），12例由多次妊娠免疫产生，55例由反复输血引起，1例为自身特异性；ABO和Rh以外其他血型系统抗体10例（占7.46%），单纯自身抗体阳性者56例（占41.79%）。**结论** 在引起配血不合或溶血性输血反应的原因中，Rh系统的免疫居第1位，为受血者提供Rh因子同型血液输注是减少长期输血治疗患者发生Rh免疫的重要策略。

讨论：Rh是红细胞上最复杂的血型系统，在安全输血中占有重要地位。ABO和Rh（D）同型输血，避免了ABO和D抗原免疫引起的溶血性输血反应，但随着RhE、C、e、c和其他血型抗原的随机输注，给这些抗原提供了免疫的机会。本次回顾性调查结果表明，在引起配血不合或溶血性输血反应的原中，Rh系统的免疫抗体位居第1位（占50.75%），其次是自身抗体（占41.79%，主要发生在自身免疫性溶血性贫血病例中），第3位才是ABO和Rh以外其他系统抗体（仅占7.46%）。因此，在为输血支持疗法治疗的患者选择血液时，在ABO和Rh（D）同型的血液中，选择E、C、e、c同型的血液可以将输血免疫风险降低50.75%。综上所述，Rh血型系统在现代输血中具有重要地位，应给予重视。加强Rh血型抗原的研究是安全输血的基础，输血前对受血者进行全面的血型检测和抗体筛查是确保输血安全的前提，为受血者提供Rh因子同型血液输注是减少长期输血治疗患者发生Rh免疫的重要策略。

5. 《多次输血患者 Rh 抗原分型检测的重要性》

作者：叶宏辉，徐凤娟，倪映华，金佩，王静，赵英

来源：临床血液学杂志 2010年10月第23卷第10期

摘要：**目的** 通过对金华市中心医院输血患者检测到的不完全抗体分析，阐述多次输血患者Rh抗原分型检测的重要性。**方法** 在常规输血患者中进行不完全抗体检测，并对抗体进行鉴定，对患者的输血情况进行调查统计。**结果** 2004-2009年输血患者中检测到12例不完全抗体，其中抗E 8例，抗c 4例，抗C 2例，有3例患者同时存在2种Rh系统的抗体。12例患者均为长期或短期多次输血的患者。**结论** 长期或短期内多次输血的患者应当进行Rh抗原分型，选择Rh配合的血液成分制品，特别是红

细胞制品进行输注，以免产生 Rh 抗体。

讨论：假如对有输血史、妊娠史、短期内需要接受多次输血或长期需要输血改善贫血症状的慢性贫血疾病患者进行 Rh 抗原分型检测，并给予同 Rh 抗原血液进行输血治疗，可以避免 Rh 系统抗体的产生。对于已经产生某一 Rh 抗体的患者，更应以同 Rh 表型的血液输注，以免产生另一 Rh 抗体，增加配血难度。对于 Rh（D）阴性多次输血的患者，进行抗原分型检测，并给予同 Rh 抗原血液输注显得尤为重要。作者认为，如果血液中心或血站在采到 Rh（D）阴性血时，对其进行 Rh 抗原分型检测，并制成一个 Rh 阴性献血员表型库，这样可以有针对性地寻找献血员。因为《临床输血技术规范》并没有要求对 Rh 阴性献血员进行表型测定，许多市级的血站还未做此类工作。不过许多大型的血液中心已经开展了此项工作。因此，长期或短期内多次输血的患者应当进行 Rh 抗原分型，尤其是 Rh（D）阴性的长期多次输血患者，更应进行 Rh 抗原分型。选择 Rh 配合的血液成分制品，特别是红细胞制品进行输注，以免产生 Rh 抗体。

表 1 12 例患者输血及相应不完全抗体情况

临床诊断	输血情况	Rh 抗原分型	检测到的抗体
骨髓增生异常综合征	3 年间多次输血	CCDee	抗 E 抗 c
再生障碍性贫血	5 年间多次输血	CcDee	抗 E
骨髓增生异常综合征	3 年间多次输血	CCDee	抗 c
骨髓增生异常综合征	4 年间多次输血	ccDEE	抗 C
肝硬化,消化道大出血	3 年间多次输血	CCDee	抗 E 抗 c
再生障碍性贫血	7 年间多次输血	ccDEE	抗 C 抗 e
恶性淋巴瘤	3 年间多次输血	CCDee	抗 c
急性白血病 M ₃ 型	5 年间多次输血	CCDee	抗 E
慢性粒细胞白血病	7 年间多次输血	CcDee	抗 E
骨髓增生异常综合征	3 年间多次输血	CcDee	抗 E
股骨干骨折,多发伤	2 个月内多次输血	Ccdee	抗 E
直肠癌术后化疗贫血	6 个月内多次输血	CCDee	抗 E

6. 《121 例溶血性输血反应不规则抗体特异性分析》

作者： 陈忠，张莉尼

来源： 临床检验杂志 1999 年第 17 卷第 1 期

为了解因 ABO 血型不合以外发生溶血性输血反应的不规则血型抗体的种类及其频率，进一步对溶血性输血反应认识的提高，本文收集了 20 年来国内有关文献 121 例，并进行分析。

表 1 121例溶血性输血反应抗体特异性分析

抗体特异性	例数	抗体特异性	例数
抗-D	26	抗-M	1
抗-C	7	抗-M, -C	1
抗-E	32	抗-M, -E	1
抗-c	6	抗-M, -G, -E	1
抗-e	3	抗-M, -G, -D, -E	1
抗-e, -E	8	抗-S	2
抗-D, -E	3	抗-Le ^a	1
抗-G, -D	2	抗-Le ^a , -E	1
抗-G, -E	1	抗-Jk ^a	3
抗-G, -e	1	抗-Jk ^a , -e, -E	1
抗-G, -D, -E	4	抗-Jk ^b	2
抗-e, -E, -cE	6	抗-Jk ^b , -E	1
抗-cE ^[1]	1	抗-Jk ^b , -C	1
抗-e, -Ce ^[2]	1	抗-Fy ^a	1
抗-G+, D ^[3]	1	抗-D ^b	1

* 根据该文血清学反应格局可能还含有抗-e

7. 《100例山东汉族人Rh血型系统RHD基因和RHCE基因结构分析》

作者：毛永鑫

来源：山东医药 2005 年第 45 卷第 29 期

所有 100 例阴性样本中，RHD 基因全部缺失型 67 例，占 67%；RHD 基因全部存在型 21 例，占 21%；RHD 基因部分缺失型 12 例，占 12%。阳性对照样本 RHD 基因的 8 个外显子全部存在。RHD 与 RHCE 基因的关系：RHD 基因全部存在或部分存在的个体，其表现型均为 Cc 或 CC；而表现型为 cc 的个体，其 RHD 基因均全部缺失。提示 RhD 阴性个体中 RHD 基因与 RhC 表现型之间存在某种联系。

讨论：本研究结果表明，山东地区汉族 RhD 阴性个体 D 基因外显子存在明显的多态性。Rh 表型为 cc 者，均缺失全部 D 基因外显子；而全部存在或部分存在 D 基因外显子者，其 Rh 表型均为 Cc 或 CC。此提示 RHD 基因的存在与 RhC 表型之间有一定联系。

RHD 基因定型技术灵敏度高，特异性好，在 HDN 早期诊断和 Rh 血型疑难定型方面具有特殊作用。鉴于汉族人群 RHD 基因结构不同于高加索人种，应用基因定型方法时，应分析被检个体的 Rh 表型。若为 Rhcc 表型，可以根据有无 RHD 基因进行基因定型；若为 RhCc 或 RhCC 表型，则应以血清学定

型结果为准。应进一步探讨汉族人 RhD 抗原的表达机制及部分个体存在或部分存在 RHD 基因却不表达的原因，此对探明汉族人 RHD 基因结构以及将基因定型结果应用于临床极为重要。

8. 《RHCE 基因和 RhCcEe 抗原研究进展》

作者：易品，黎诚耀，邵超鹏

来源：中国输血杂志 2014 年 12 月第 27 卷第 12 期

摘要： 1990 年，法国和英国的科学家分别成功克隆了 *RHCE* 基因；1994 年，Cherif-Zahar 等又进一步阐明了 *RHCE* 基因的结构；2000 年，*RHCE* 基因所有内含子的序列在 Gene-Bank 公布。但至今 20 多年，关于 *RHCE* 基因的研究资料远少于 *RHD* 基因，各国关于 RhD 抗原的输血规范多相对明确，而关于 RhCcEe 抗原的临床免疫学问题，包括中国在内的许多国家均缺乏相应规范，这直接导致 RhCcEe 抗原引起的临床输血问题和胎母免疫问题不断增多。

我们粗略统计了国内关于 RhCcEe 表型的研究文献，在 82546 例被检个体中，RhD(+)个体 >90% 是 CCee、CcEe 和 Ccee 表型，以 CCee 最多，占 51.82%；而 RhD (-) 个体>90%是 ccee、Ccee 和 ccEe 表型，以 ccee 最多，占 56.17%，但不管是 RhD (+) 还是 RhD (-) 个体，CCEE 表型均罕见（表 1）

表 1 国内文献报道的中国人 RhCcEe 表型分布统计^[16-28] (n = 82 546, %)

	CCee	CcEe	CCEe	Ccee	ccEE	ccee	CCEE	CcEE	ccEe	合计
RhD (+)	29 431 (51.82)	18 431 (32.45)	705 (1.24%)	4 379 (7.71)	2 263 (3.98)	223 (0.40)	7 (0.01)	121 (0.21)	1 239 (2.18)	56 799 (100)
RhD (-)	252 (4.70)	124 (2.31)	25 (0.47)	1 598 (29.80)	72 (1.34)	3 012 (56.17)	3 (0.06)	11 (0.21)	265 (4.94)	5 362 (100)
RhD (+) / RhD (-)	7953 (39.01)	7 240 (35.5)	260 (1.28)	3 091 (15.16)	1 026 (5.03)	80 (0.39)	5 (0.03)	79 (0.39)	651 (3.19)	20 385 (100)
合计	37 636 (45.59)	25 795 (31.25)	990 (1.20)	9 068 (10.99)	3 361 (4.07)	3 315 (4.01)	15 (0.02)	211 (0.26)	2 155 (2.61)	82 546 (100)

自 1994 年 Le van Kim 等将 *RHCE* 基因分型应用于胎母免疫以来，以 PCR 为基础的 *RHCE* 基因分型技术发展迅速，常见技术包括 1) 序列特异性引物-PCR(PCR-SSP)：根据 *RHCE* 基因特异性位点设计序列特异性引物，特异性扩增 *RHCE* 基因某些外显子或内含子，该法操作简便，特异性强，结果可靠，是目前常用的 *RHCE* 基因分型方法。2) 实时定量-PCR(RT-PCR)：该法所需 DNA 量较少，所以常用于检测孕妇外周血中微量的胎儿 DNA。3) 限制性酶切技术-PCR(PCR-RFLP)：用不同的限制性酶酶切 PCR 扩增产物，然后电泳分析片段长度多态性，但该法操作步骤较多，重复性差，目前较少使用。另外，序列特异性寡核苷酸-PCR(PCR-SSO) 是广泛用于 HLA 分型的 1 种方法，目前虽然较少用于 *RHCE* 基因分型，但由于它易于自动化，便于大样本检测，具有较好的应用前景。

PCR 基因定型技术目前尚未用于临床大样本检查，归纳起来其主要用于：1) RhCcEe 变异体的确认或血清学检测结果难以判定时；2) 长期输血患者(如地中海贫血患者)血清学无法准确测定其本身的

RhCcEe 表型时；3) 无法获得有效的红细胞时，如胎儿表型测定、溶血标本等。

RhCcEe 抗体引起的新生儿溶血病（HDN）逐年增加，而受血者血清中的同种抗体 70%-80% 与 RhCcEe 抗体有关，RhCcEe 抗原的临床应用可简要归纳为：1) 临床输血。Rh 血型在临床输血中的地位仅次于 ABO 血型，2000 年卫生部《临床输血技术规范》明确要求检测 RhD 抗原，但未规定检测 RhCcEe 抗原，这使供者与受者发生 RhCcEe 不合输血时常导致相应同种抗体的产生。2) 胎母血型不符可导致的 HDN。由于输血或妊娠形成了初次免疫反应，当母亲再次妊娠时，可发生新生儿溶血病，随着国家单独二胎政策的实施，HDN 发生的可能性将大大升高。3) RhCcEe 变异体。RhCcEe 抗原的变异体常呈现弱表达或部分表达，常规检测方法难以准确定型而导致同种免疫的发生，这可导致患者日后输血面临更大风险，尤其是长期输血患者，如地中海贫血、镰刀型红细胞性贫血患者等。RHCE 基因分型配合血清学分型技术，使 RhCcEe 配型输血成为可能，可有效避免相应输血反应及改善输血效果。

9. 《RhCE 血型基因分型与血清学分型的比较研究》

作者：周华友，张印则，孟庆宝，白旭华，王从容，曹琼，兰炯采

来源：中华医学遗传学杂志 2008 年 2 月第 25 卷第 1 期

摘要： **目的** 对中国汉族、新疆维吾尔族和哈萨克族人的 RHCE 基因进行定型，并与血清学分型结果进行了比较。**方法** 使用 PCR-序列特异性引物技术对 98 例随机非血缘关系汉族 RhD 阳性样本和 RhD 和 RHD 均为阴性汉族人样本 230 例，新疆维吾尔族人样本 72 例、哈萨克族人样本 18 例进行 RHCE 基因定型。**结果** RhD 阳性和 RhD 阴性样本中 RHE/RHe 等位基因定型结果都与其血清学结果相符；在中国汉族人中，利用 RHCE 基因第 1 外显子的 nt48 的 C—G 多态性来检测 RHC 等位基因将产生 4.44% 的错误，利用 109 bp 插入序列这一多态性来检测 RHC 等位基因，将导致 4.05% 的漏检；表型为 RhD 阴性的 72 例随机非血缘关系维吾尔族人和 18 份哈萨克族人样本的 RHE/RHe 和 RHC/RHc 等位基因定型结果与血清学的一致，没有发现假阳性和假阴性。**结论** 使用 PCR-序列特异性引物技术对 RHE/RHe 和 RHc 进行基因定型结果准确，与血清学结果相符；利用 RHCE 基因第 1 外显子第 48 位多态性来检测 RHC 等位基因会因 RHc 在此位点的突变干扰而导致假阳性结果；利用 109 bp 插入序列来检测 RHC 等位基因会因 109 bp 的缺失而导致假阴性结果，对 RHC 等位基因定型必须用两种以上的多态性来检测。

10. 《RhCE 抗原基因分型和表型不一致与等位基因变异的

相关性研究》

作者：王志红，兰炯采

来源：中国输血杂志 2012 年 11 月第 25 卷第 11 期

摘要：目的 探讨变异 RhCE 抗原的分子背景及 RHCE 基因的遗传学特征与基因多态性。**方法** 采用单克隆抗-C、-c、-E 和-e 试剂检测 10373 例 RhD 阳性和 635 例 RhD 阴性献血者的 RhCE 表型；选择 942 例标本 PCR-SSP 技术做 RHCE 基因分型，对基因分型与血清学分型不一致标本采用 PCR-SSP 检测 22 个主要 RHCE 变异等位基因，部分 RHCE 等位基因采用测序技术鉴定。**结果** 共有 54 例标本(占 5.73%) 基因分型结果与血清学表型结果不一致，经 PCR-SSP 检测出 22 种与弱表达抗原相关的 RHCE 等位基因变异体，经血清学复检有 36 例标本 RhCE 抗原存在弱反应或极弱反应。**结论** 在血清学检测时表达弱反应的 RhCcEe 抗原标本中检出多种 RHCE 等位基因类型，变异的等位基因可以影响基因分型预测血型抗原的准确性：RhCE 表型和基因型不一致的原因可能由变异的等位基因或未发现的等位基因引起。

讨论：通过不同 Rh 表型来统计评价血清学检测和基因检测的吻合度，通过对 RhCE 抗原的血清学和基因检测来评价血清学检测和基因检测的吻合度，我们发现基因型检测比血清学检测可靠。对 Rh 表型和基因型不一致标本做等位基因变异研究，可发现 Rh 抗原反应性降低和缺失的标本与 RHCE 变异基因存在关联。目前，血型基因分型技术尚存在不足，等位基因的多态性变异使得基因型和表型会出现不一致的现象，多种基因变异的结果可能产生相同的表型，一些多态性变异的抗原血清学试验反而更可靠，所以将血型血清学方法与基因分型相结合应用，是目前检测一些特殊 Rh 表型和单体型的可靠方法。

11. 《Antibody screening in repeatedly transfused patients》

作者：Hassab AH1, Sorour AF, Ahmed MI, Salama MA, Aly AK.

来源：Egypt J Immunol. 2008;15(2):1-14

《反复输血患者的抗体筛查》

摘要：目的 输血前相容性检测实验的目的是为了预防免疫溶血反应。本文研究的目的是为了评估凝胶实验对长期输血患者有临床意义抗体筛查的有效性。**方法** 本文研究对象为 200 名地中海贫血患者，患者的血型、Rh 表型、抗体的筛查的鉴定均通过凝胶微板实验。**结果** 在 21 名患者中发现了红细胞同种

免疫抗体（10.5%），其中，抗-E 5 例（23.8%），抗-D 4 例（19%），抗-K 4 例（19%），抗-e 3 例（14.3%），抗-Fya、抗-Jsa、抗-Lua、抗-N 和抗-s 各 1 例（4.8）。在具有临床意义的抗体中，抗-E 频率最高。本研究揭示了输血的频率、持续时间与输血不良反应及各抗体发生的关系。**结论** 抗体筛查的鉴定对于长期输血的患者意义重大，尤其是 ABO 及 Rh 血型。

12. 《重型 β 地中海贫血患者突变基因及同种血型抗体频率调查》

作者：李岚，翁彬，孟庆宝

来源：中国输血杂志 2016 年 3 月第 29 卷第 3 期

摘要： **目的** 了解重型 β 地中海贫血（ β -TM）患者同种血型抗体类型与基因突变的频率。**方法** 用 PCR-RDB 和微柱凝胶法检测定期输血的 280 名重型 β -TM 患者基因型和同种抗体类别。以卡方检验分析其基因与同种血型抗体频率，以累计输血量 40U 为界值探讨输血量与患者同种抗体产生的关系。**结果** 本组重型 β 地中海贫血患者中，检出同种血型抗体 27 例，检出率 9.64%（27/280），其中 Rh 血型系统抗体 85.19%（23/27）、Kidd 11.11%（3/27）、MNSsU 3.70%（1/27）。输血量 <40U 的患者产生有临床意义的同种抗体的比例 5.90%（8/135），输血量 >40U 患者产生同种抗体的比例为 13.10%（19/145）（ $P < 0.05$ ）。**结论** 随着输血量的增加，重型 β -TM 患者产生同种血型抗体的比率相应增加，因而这些患者输血应采用 Rh 表型同型血液，以减少同种抗体的产生频率，为长期配合性输血创造条件。

讨论：证实 Rh 血型抗体是引起免疫性溶血性输血反应最常见的同种抗体。其中抗-D 可引起严重输血反应，并导致受血者新生儿或胎儿死亡，反复输血的患者则易产生抗-E 致溶血，而抗-c 仅能通过免疫产生，其重要性要次于抗-D 和抗-E。近年来，由于临床已将 D 抗原检测纳入常规血型检测项目，所以抗-D 的检出率和引起不良反应的机会降低。但 Rh 血型系统中的 E、e、C、c 抗原与输血患者是否相符尚未引起更多关注，有研究者认为免疫产生抗 E 的患者可能合并出现抗-c，其效价可能弱于抗-E，呈剂量效应；免疫产生抗 C 的患者亦可合并出现抗-e，通常情况下抗-E 或抗-c 易与抗-Ec 同时存在。由此提示临床，在检出患者体内有 Rh 血型抗体时，输血时应尽量用与患者 Rh 表型同型的血液。又因为 TM 患者每次输血量相对恒定，输血间隔变化不大，输血量与输血次数呈正相关，因此对累积输血量较大的反复输血患者采取 Rh 血型系统配合型输注是有益的。我们建议：一方面临床在患者确诊为 TM 后的第 1 次输血时要检测患者 Rh 表型并建随诊卡；另一方面，血站宜建立献血者 Rh 表型数据库，以最大限度保证长期输血患者的输血安全，避免因输入含有抗原阳性血液而引起迟发型输血不良反应。所以，重型 β -TM 患者在开始第 1 次输血前明确血型很重要，包括 ABO、Rh（D）阴性还是阳性，以

及较为罕见的 Rh 系统 E、e、C、c 抗原，甚至 Kidd 和 Kell 等系统的抗原，使这类患者尽可能输注血型相符的血液，减少血液不吻合或不相容产生的排斥反应，避免输血相关性溶血病发生。

13. 《Red cell alloimmunization in a diverse population of transfused patients with thalassaemia》

作者：Alexis A. Thompson, Melody J. Cunningham, Sylvia T. Singer

来源：2011 Blackwell Publishing Ltd, British Journal of Haematology, 153, 121–128

《地中海贫血患者中红细胞同种免疫反应》

摘要：红细胞输注是几种严重型地中海贫血疾病首选的治疗手段。储存前的血液筛查已经将输血感染的传染病的发病率降低，但是抗 RBC 抗体的产生仍然是比较棘手的问题。本文研究了 697 名志愿者，他们都曾经接受过输血治疗，以下为抗体产生的种类及频率（表 1）。

表 1

RBC 抗体	频率（%）
抗-E	22（19.0）
抗-Kell	21（18.1）
抗-C	11（9.5）
抗-Kidd（Jka, Jkb）	9（7.8）
抗-HLA	8（6.9）
抗-c	7（6.0）
抗-e	6（5.2）
抗-Kpa	6（5.2）
抗-Lewis	4（3.4）
抗-D	4（3.4）
抗-S	3（2.6）
抗-V	2（1.7）
抗-Duffy（Fya, Fyb）	2（1.7）
抗-M	2（1.7）
Other	9

14. 《Prophylactic RhCE and Kell antigen matching:

impact on alloimmunization in transfusion-dependent patients with myelodysplastic syndromes》

作者： Y. Lin, A. Saskin, R. A. Wells

来源： Vox Sanguinis (2017) 112, 79–86

《RhCE 和 Kell 抗原匹配对输血依赖性骨髓增生综合症患者同种免疫反应的影响》

摘要：背景和目的 30-80%的骨髓增生综合症（MDS）患者需要长期输血治疗并面临同种免疫的风险。本研究在同一个研究机构对比了 2 组 MDS 患者同种免疫反应的发生率，其中一组采用对 RhCE 和 K（PAM）抗原进行匹配，而另一组则没有进行 RhCE 和 K（PAM）抗原匹配。**材料和方法** 输血记录用于回顾 2 组样本的输血量，是否进行 RBC 的表型分型，第一次同种免疫反应发生的类型及日期，以及 RhCE 和 K 抗原检测及匹配实验。**结果** 176 名输血依赖型的 MDS 患者中，同种免疫的发生率是 17%，大部分同种免疫抗体（87%）是 Rh 或 Kell 抗体。同种免疫在采用对 RhCE 和 K（PAM）抗原进行匹配的实验组中的发生率是 11%，而在没有进行 RhCE 和 K（PAM）抗原匹配的对照组中的发生率是 23%（ $P=0.06$ ）。Rh/K 同种免疫的发生率分别是 7%VS22%（ $P=0.008$ ）。**结论** 采用 PAM 的实验组同种免疫发生率是 11%低于没有采用 PAM 对照组的 23%，虽然这种差异不是很明显，但是 Rh/K 同种免疫发生的频率实验组与对照组的差异缺失具有较大的差异性。因此，PAM 方针应该在 MDS 患者的输血中考虑使用，随后的研究应该考虑该方针面临的财力及当地政策等因素开展。

15. 《The Rh blood group system: a review》

作者： Avent ND, Reid ME

来源： Blood, 2000, 95(2) : 375- 387

《Rh 血型系统（综述）》

摘要：在母体同种免疫反应中，50%是由于 D 抗原引起。剩余的是由于 Rh、MNS 和 Diego 等血型中的 K、c、C/G、E 和 Fy^a 和其它低频抗原引起。因此，母胎 Rh 不相容一直是 HDN 的主要原因。随着分子生物学的发展，提取胎儿游离 DNA 来分析胎儿血型并预防 HDN 发生成为可能。

16. 《Rh 非 D 型新生儿溶血病 11 例》

作者：周根水，童小燕，舒锦

来源：中国输血杂志 2009 年 06 月第 22 卷第 6 期

摘要： 在新生儿溶血病中，Rh 不合导致的溶血发病率仅次于 ABO 型溶血，病情进展快，愈后不好，易并发黄疸、核黄疸、甚至致残或死亡。目前 Rh 系统的抗原除 D 外，还有 C、c、E、e 4 种抗原，这 4 种抗原可致敏孕妇产生抗体，导致胎儿及新生儿产生溶血。我们从 2001 -2007 年对 2000 多例新生儿溶血病 (黄疸) 患儿进行了筛查，共检出 11 例患儿及母亲 RhD 均为阳性的新生儿溶血病例，现报告如下：其中抗-cE 3 例、抗-c1 例、抗-E7 例。另有 1 例患儿与母亲血清中均检测到抗-c，但患儿与母亲 Rh 血型相同均为 DCe (此例不为 Rh 系统的溶血)，还有 1 例 “D 缺失 ” 引起的溶血。

17. 《Rh 血型系统在新生儿溶血病诊断中的意义》

作者：石翠英，何路军，乔芳，张静，贾桂聪，田亚娟

来源：河北医药 2014 年 3 月 第 36 卷 第 6 期

摘要： **目的** 探讨 Rh 血型免疫对诊治新生儿溶血病(hemolytic disease of the fetus and the newborn, HDN) 的重要性。**方法** 采用试管法鉴定患儿及其父母的 ABO 血型和 Rh 血型及因子，溶血三项实验、抗体筛选和抗体特异性鉴定采用抗球蛋白卡。**结果** 1060 例母/父血型为 RhD(+) O 型/非 O 型的患儿中检出 ABO 系统 IgG 型抗-A(B) 561 例(52.92%)，其中 67 例的抗体仅游离在血浆中，115 例的抗体全部致敏在红细胞上，379 例的血液中既有游离的抗体也有致敏到红细胞上的抗体。未检出 ABO 以外其他血型系统抗体；92 例母亲血型为 RhD(+) 非 O 型的患儿中，67 例母父 ABO 血型相同或相合，检出 Rh 血型系统抗体 32 例(47.76%)，抗体特异性分别为：抗-cE(17 例)，抗-E(10 例)，抗-Ce(4 例)，抗-c(1 例)；25 例母父 ABO 血型不相合，检出 Rh 血型系统抗体 1 例，特异性为抗-cE，检出游离的 ABO 抗体 1 例；70 例母亲为 RhD(-) 的患儿中，44 例母父 ABO 血型相同或相合，检出抗-D 抗体 13 例(29.55%)，未检出 ABO 系统抗体，26 例母父 ABO 血型不相合，检出抗-D 1 例，ABO 系统抗体 7 例。**结论** 应当重视 ABO 血型相合夫妇的 HDN 的预防和诊治，积极推行围产期外周血 Rh-HDN 检查和检测、对新生儿尽早进行 HDN 确诊试验，临床意义重大。

18. 《抗-c 抗体引起的 Rh 新生儿溶血病一例》

作者：萧露露，马琳雅，戴丽蓉

来源：中华血液学杂志 1995 年 7 月 第 61 卷第 7 期

摘要： 孕妇有多次妊娠史，特别是 3 胎出生后死于新生儿黄疸的病史，说明孕妇在多次分娩中受到 c 抗原的刺激产生了抗-c 抗体，这种抗体由于反复妊娠又使母体不断产生回忆性免疫应答，血清中产生大量抗-c 抗体穿过胎盘屏障进入胎儿血循环，破坏胎儿的红细胞。随着胎次的增加胎儿病情逐渐严重，第 3-5 胎新生儿出生后即有黄疸，因此推测，既往 3 胎可能是同一病因死亡。此外，抗-c 抗体可能与曾经大量输血有关，国内抗-c -Rh HDN 报道较少见。本例由于在产前进行 HDN 的血型血清学检查，在出生后确诊 Rh-HDN，并在溶血高峰期之前给予新生儿换血而成功救治，患婴在换血 60 mL 后血清中的抗-c 抗体完全消失。

19. 《母婴 Rh(c)抗原不合引起新生儿溶血病 1 例》

作者：曾丰，张铭华

来源：临床血液学杂志 2009 年 6 月第 22 卷第 6 期

摘要： 目前一些医院仅开展 ABO 和 Rh(D)血型鉴定，未开展新生儿溶血病检测。临床医生仅根据父母或母婴血型来判断是否存在血型不合的新生儿溶血病，容易漏诊由 Rh(E)、Rh(c)或其他小频率抗体所导致的 HDN。笔者认为孕妇产前应常规检查 ABO 和 Rh 血型，对夫妇血型不合或有妊娠史和输血史的孕妇定期做产前血型血清学检查及围产期保健，发现异常及早诊断治疗，有利于优生优育。

20. 《新生儿溶血病 Rh 血型分布与临床分析》

作者：詹洁瑜，舒琳琳，颜思璐，李俊勋

来源：《中国医学创新》第 14 卷 第 17 期（总第 407 期）2017 年 6 月

摘要： **目的** 探究新生儿溶血病 Rh 血型分布情况。**方法** 取 2014 年 2 月-2017 年 2 月本院检验科收检的 633 例新生儿高胆红素血症、疑似新生儿溶血病患者及其母亲的 EDTA 抗凝管抗凝血样品为研究对象。采用盐水试管法进行 ABO 和 Rh 血型检测，微柱凝胶法进行新生儿溶血病溶血三项（新生儿直接抗球蛋白试验、游离抗体试验、释放试验）的检测，并对患者的血型分布和溶血三项检查结果进行分析。**结果** 研究纳入的 633 例疑似新生儿溶血病样本中，有 ABO 血型系统新生儿溶血病（ABO HDN）438 例（69.19%），Rh 血型系统新生儿溶血病（Rh HDN）17 例（2.69%）；研究纳入的 633 例疑似新生儿溶血病样本中，直抗人球蛋白试验阳性 91 例，阳性率为 14.38%，游离抗体试验阳性 285 例，阳性率为 45.02%，释放试验阳性 455 例，阳性率为 71.88%；455 份阳性标本中 ABO HDN 438 例，占总阳性标本的 96.26%，Rh HDN 17 例，占总阳性标本的 3.74%；在 Rh

血型系统的 HDN 中,以抗-D 溶血为主,占 Rh 血型系统的 HDN 的 76.47%,抗-E、抗-Ec 和抗-C 分别占 11.76%、5.88% 和 5.88%;疑似患儿出生 4 d 内采集血液样品的检测阳性率与出生 4 d 以上采集血液样品阳性率相比,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 新生儿溶血病以 ABO 血型系统为主,占总阳性标本的 96.26%,Rh 血型系统的 HDN 占总阳性标本的 3.74%,其中,在 Rh 血型系统的 HDN 中,以抗 -D 溶血为主,占 Rh 血型系统 HDN 的 76.47%,抗-E、抗-Ec 和抗-C 分别占 Rh 血型系统 HDN 的 11.76%、5.88% 和 5.88%。

21. 《四川地区无关供血者 Rh 血型系统基因分型及结果分析》

作者: 宋宁, 郑世荣, 姚志强, 魏庭萱, 陈静娴, 陈强

来源: 中国输血杂志 2009 年 3 月第 22 卷第 3 期

摘要: **目的** 探讨人类红细胞 Rh 血型基因在四川地区汉族人群中的分布频率以及与 Rh 血清学表型之间的关系。**方法** 采用 PCR-SSP 技术对随机选取的 200 名四川地区汉族无关供血者进行 *RHD* 基因和 *RHCE* 基因检测。同时,采用常规血清学技术检测 RhD、C、c、E、e 抗原表现型。**结果** 共检出 RhD 阳性 198 例, RhD 阴性 2 例。C 基因频率为 0.675, c 基因频率为 0.325, E 基因频率为 0.2475, e 基因频率为 0.7525。RHC/c、RHE 定型结果与血清学一致; 1 例表现型为 Ccee RhD 阴性样本带有 *RHD* 基因外显子 10 和内含子 10; 7 例 RHe 基因与血清学结果不相符,均出现基因检测阳性,而无相应的表现型。**结论** 使用 PCR-SSP 技术能够准确对红细胞 Rh 血型系统基因分型。200 份样本中, RHC/c、RHE 基因定型可获得与血清学表现型完全一致结果; 1 例表型为 dCcee 个体,为 RhD 抗原阴性带有不完整的 *RHD* 基因外显子,揭示 *RHD* 基因多态性; 3.5% (7/200) 样本 RHe 基因阳性而未见相应的抗原表达,提示可能遇到罕见的 *RHCE* 单体型或是新的 RHe 基因。

讨论: Rh 血型系统抗原的常规检测方法是血清学方法,使用 IgM 试剂直接检测或 IgG 试剂采用间接抗球蛋白或酶介质方法等,但是由于疾病或其它因素的影响,某些个体的红细胞在血清学定型时结果难以判断;另外,由于血清学方法受抗血清来源的限制,即便使用多厂家、多批次的试剂,也有定型失误的可能存在。随着分子生物学检测技术的不断完善及国内血型工作者的不断努力,对中国人 Rh 血型分子遗传背景的研究会更加透彻,适合中国人的 *RHD/CE* 基因分型方法会更加完善。在血型血清学实验基础上,同时结合分子生物学技术手段,使检测结果准确可靠,更好的为临床输血、优生学研究服务,也可为研究中国人 Rh 血型遗传背景积累可贵的资料。

22. 《Rh 血型 C、c、E、e 抗原在南京地区部分人群分布频率》

作者：刘毅，吴敏慧，郑凌，王玲，刘衍春

来源：中国输血杂志 2009 年 10 月第 22 卷第 10 期

摘要：从免疫血液学角度看，Rh 血型系统最主要的 5 个抗原中，免疫原性强弱顺序依次为 D、E、C、c、e，这 5 种抗原与相应抗体结合均能引起严重的血液免疫学反应，如溶血性输血反应、新生儿溶血病 (HDN) 和自身免疫性溶血性贫血等。人们对于 Rh D 抗原的认识已较充分，其余抗原则重视程度不高。需要指出的是，RhE 作为高频率的血型抗原，由其免疫产生的血型抗体 (抗-E) 的检出率高达不规则抗体检测中的 1/4 以上，因此，对 Rh 血型系统非 D 抗原的检测应加以重视。

表 2 RHD 阳性献血者 RhD C c E e 抗原检测结果

	DCe	DCeE	DCce	DcE	DcEe	Dce	DCEe	DCeE	合计
n	243	208	50	40	16	6	6	2	571
比率 (%)	42.56	36.43	8.76	7.01	2.80	1.05	1.05	0.35	100
抗原频率	C(89.14%)		c(56.39%)		E(47.64%)		e(92.64%)		
基因频率	C(0.6637)		c(0.3363)		E(0.2750)		e(0.7250)		

表 3 RHD 阴性献血者 RhC c E e 抗原测定结果

	ce	Cce	cEe	Ce	CcEe	cE	CEe	CcE	合计
n	608	285	68	45	21	5	4	1	1037
比率 (%)	58.55	27.54	6.57	4.35	2.03	0.48	0.39	0.10	100
抗原频率	C(37.37%)		c(95.27%)		E(9.57%)		e(99.42%)		
基因频率	C(0.1953)		c(0.8047)		E(0.0506)		e(0.9494)		

23. 《洛阳献血者 Rh 抗原和基因多态性研究》

作者：刘巧，王志红，刘瑞玲，马红丽，兰炯采

来源：临床输血与检验 2013 年 10 月第 15 卷第 4 期

摘要： **目的** 通过观察随机选择的献血者人群 Rh 表型频率，从表型推测 RHCE 基因频率，从而估测 Rh 单倍型频率。分析 RH 基因的遗传学特征和抗原多态性，为 Rh 血型在中国临床输血医学和产科学的应用提供理论依据。**方法** 统计 2005 年 1 月~2011 年 12 月 356 071 例捐献全血的献血者中的 RHD 阴性数据，随机选择 10 373 例 RHD 阳性献血者检测 RhCE 血清学表型。利用哈德-伯格遗传平衡定律检测吻合度，用方根法计算 Rh 基因频率和单倍型频率， χ^2 检验分析不同分类的差异。**结果** Rh 血型基因和单倍型频率为 D:0.932 9、d:0.067 1、DCe:0.615 3、DcE:0.270 4、Dce:0.034 1、DCE:0.013 2、dCe:0.012 3、dCE:0.000 6、dcE:0.002 4、dce:0.051 8，与中国汉族人在基因平衡条件下的差异无统计学意义($\chi^2=13.16, P>0.05$)。RHCE 基因和单倍型频率在不同 RhD 表达类型中的分布差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 本研究准确估计了 RH 等位基因频率，证实了估测的单倍型频率的可靠性，血清

学检测中携带 RhC 和/或 RhE 抗原的表型与不同表达的 RhD 类型有关。该结果可以代表中国汉族人的 Rh 抗原和基因多态性特点。需要制定标准的弱 D 定型方法和合理的输血策略，以避免抗球蛋白试验对弱 D 抗原的漏检。

24. 《Blood group genotyping in multi-transfused patients》

作者: Sule Mine Bakanay, Aysenur Ozturk, Talia Ileri

来源: Transfusion and Apheresis Science 48 (2013) 257–261

《多次输血患者血型基因分型》

摘要: 背景 在长期输血的患者中，经典的凝集实验在检测这类人群的 RBC 表型时会因为之前的输血出现错误。**方法** 39 例患者，分别是地中海和镰刀形细胞贫血患者，患者 DNA 提取用于红细胞基因分型。Rh 和 KKD 分型重要是用于确定 RHD、RHCE、Kell、Kidd、Duffy 血型系统的多态性。基因分型的结果与红细胞凝集的血清学方法进行对比。**结果** 在 37 名患者中有 19 例（51%）基因分型与血清学表型在 25 个等位基因间存在差异。其中，在 12 例患者中，差异存在潜在的同种免疫风险。**结论** 红细胞基因分型检测在长期输血的人群中存在至关重要的作用，尤其是该类患者在首次输血前进行基因分型检测意义尤为重要。

Genotyping and phenotyping discrepancies.

Patients	Genotype	Phenotype	Risk of alloimmunization
1	RHCE*CC	RhCc	Present
2	RHCE*CC	RhCc	Present
3	RHCE*ee	RhEe	Present
4	RHCE*cc EE	RhCc ee	Present
5	RHCE*cc EE	RhCc ee	Present
6	RHCE*Ee	Rhee	Absent
7	RHCE*Ee	Rhee	Absent
8	RHCE*cc	RhCc	Present
9	KEL*01/KEL*02	kk	Absent
10	RHCE*Ee	Rhee	Absent
11	RHCE*CC	RhCc	Present
12	RHCE*CC	RhCc	Present
13	RHCE*Ee	Rhee	Absent
14	RHCE*cc Ee	RhCc ee	Present
15	RHCE*Cc ee	Rhcc Ee	Present
16	RHCE*Ee	Rhee	Absent
17	RHCE*cc	RhCc	Present
18	RHCE*CC	RhCc	Present
	KEL*01/KEL*02	kk	Absent
19	RhD*+	RhD—	Absent

25.《The role of molecular immunohematology in sickle cell disease》

作者: Stella T. Chou, Connie M. Westhoff

来源: Transfusion and Apheresis Science 44 (2011) 73–79

《分子免疫血液学在镰刀型细胞贫血症中的作用》

摘要: 红细胞输血治疗是镰刀型细胞贫血症 (SCD) 治疗中的重要手段。然而, 目前并没有针对该类患者通用的临床输血标准来为患者筛选合适的红细胞输注。尽管有许多的措施来实现 Rh 系统中 E、C 等抗原及其它抗原, 如 K 等抗原的匹配, 而且这些措施也降低了同种免疫反应的发生率, 但是, 患者 Rh 抗体的发生却一直存在。本文认为尽管 Rh 血型已经进行了血清学检测, 患者 Rh 血型以分子生物学 DNA 为基础的检测还是有必要的。对于镰刀型细胞贫血症患者, 分子生物学检测匹配患者与血液捐献者具有重要的临床意义。RH 的基因分型已经显示出患者人群中 Rh 抗原巨大的复杂性, 由于这类人群需要长期输血并存在很大的同种抗体产生的风险, 因此, 对于这类患者, 分子检测手段可以加强 Rh 抗原匹配度。同时, 考虑到 RH 基因的种族差异, 献血人员也需要提供基因匹配的血液来应对未来同种免疫发生率。

26. 《Red blood cell minor antigen mismatches during chronic transfusion therapy for sickle cell anemia》

作者: Marianne E.M. Yee, Cassandra D. Josephson, Anne M. Winkler

来源: Volume 00, Month 2017 TRANSFUSION

《镰刀型细胞贫血症长期输血治疗中红细胞次要抗原不匹配》

摘要: 背景 尽管在输血前会进行 Rh (C/c, E/e) 和 K 抗原的血清学匹配, 但在镰刀型细胞贫血症患者中, 红细胞同种免疫反应仍然存在很高的发生率。红细胞次要抗原的基因分型会对可能引起同种免疫反应的 RH 变异体及抗原进行检测。**方法** 在患者中对 RBC 抗原进行基因分型, 使用微珠芯片阵列的方法对 RHCE 和 RHD 基因分型。所有的患者都进行 C/c, E/e 和 K 血清学检测 (1 类) 及匹配输血。检测有不规则抗体的患者进行了抗体特异性检测, 并匹配检测输注如 Fy^a, Jk^b 等抗原 (2 类)。在近期 12 个月内, 所有输血患者均采用微珠芯片方法进行检测。**结果** 在 1135 例临床输血病例中, 有 2320

单位的红细胞输注给 90 名镰刀型细胞贫血症患者。35 例患者 (38.9%) 存在纯合或杂合的 RH 变异体。7 中新的同种抗体被发现。在 2 类输注中, 同种抗体的发生率是 100 单位的 0.706, 在 1 类输注中, 发生率是 100 单位的 0.068。在 2 类输注中, 3 例患者产生了新的抗-Js^a, 最常见的不匹配抗原是 S (43.9%), Do^a (43.9%), Fy^a (29.2%), M (28.4%) 和 Jk^b (28.1%)。 **结论** 同种免疫的发生率在输血前就存在 RBC 抗体的患者中有着更高的发生率。这种现象暗示先前的免疫反应为后期的输血发生同种免疫反应埋下更大的安全隐患, 因此, 输血前寻求 C/c, E/e, K, Fy^a 和 Jk^b 的匹配意义重大。

27. 《The experience of extended blood group genotyping by next-generation sequencing (NGS): investigation of patients with sickle-cell disease》

作者: Y. Fichou, M. Mariez, C. Le Marechal

来源: Vox Sanguinis (2016) 111, 418–424

《镰刀细胞型贫血患者血型基因的二代测序探讨》

摘要: 背景 血红蛋白病患者需要定期输血治疗, 因此该类患者很容易因为暴露于多种抗原而产生同种免疫的潜在风险, 针对此类风险, 抗原交叉配型是常规的检测避免方式。目前财力及人力密集型的血清学检测是 RBC 的金标准, 利用兴起的高通量的分子生物学工具进行基因分型, 比如二代测序, 也许会对血清学检测的现状发生改变。 **实验设计及方法** 8 名镰刀型细胞贫血症作为研究对象, 通过二代测序对 14 个红细胞血型系统的 17 个基因进行二代测序, 探讨该方法对抗原检测的可行性。为了方面未来常规开展, 样本的准备及测序都进行了精简化及自动化。 **结果** 所有样本的 DNA 测序结果通过 2 台不同的测序仪获得。抗原分型的结果包括 12 个血型系统以及 Rh 和 MNS 血型系统的部分抗原。重要的是, 测序获得的抗原分型结果在 MNS (S/s), Duffy, Kidd 和 Kell 血型系统中与血清学分型结果的一致性达到 98.9%。同时, 通过测序发现了 Yt 和 Dombrock 血型系统中的 ACHE 和 ART4 基因, 这些基因以前没有报道, 这对于未来红细胞系统基因分型起到一定的参考价值。 **结论** 总的来说, 我们制定了红细胞血型系统二代测序的一些检测流程, 同时, 针对 RHD/RHCE 和 GYPA/GYPB 的 1 和 2 外显子进行检测, 利用该工具手段, 未来可能会对特殊输血人群的常规输血治疗产生积极的影响。

28. 《High prevalence of red blood cell alloimmunization in sickle cell disease despite transfusion from Rh-matched

minority donors》

作者: Stella T. Chou, Tannoa Jackson, Sunitha Vege

来源: Blood. 2013;122(6):1062-1071

《Rh匹配输血下镰刀型细胞贫血症红细胞同种免疫的高患病率》

摘要：红细胞输血是镰刀型细胞贫血症（SCD）主要的治疗手段，但是存在RBC同种免疫的风险性。本研究中，我们的研究对象是182例SCD患者，目的探讨RhD，C，E和K抗原输血前匹配对患者输血的影响，献血员均来自非洲籍美国人。结果发现，71例（58%）长期输血和9例（15%）不定期输血的患者发现同种免疫抗体，其中55例（45%）长期输血和7例（12%）不定期输血患者的同种抗体属于Rh抗体。在被鉴定出的146个抗体种，其中91个抗体为不明确的Rh抗体，三分之一的这些抗体都存在迟发性溶血反应的实验室指标特征。56个抗体发生在RBC表型阳性的患者中，给与相匹配的Rh抗原输注；36个抗体发生在RBC表型缺失的患者中，也给与相匹配的Rh抗原输注。RH基因高分辨结果表明，87%上述研究患者存在变异等位基因。上述数据说明即便输血者与献血员进行了Rh抗原表型匹配，也会高频发生同种免疫反应的原因。我们的研究说明，RH基因变异是造成Rh同种免疫反应发生的重要原因，是否患者和献血员进行RH基因分型能降低同种免疫反应有待进一步的研究。

29. 《Allele-specific oligonucleotide polymerase chain reaction for the determination of Rh C/c and Rh E/e antigens in thalassaemic patients》

作者: Mohammad Taher Hojjati, Nahid Einollahi, Fariba Nabatchian

来源: Blood Transfus 2011;9:301-5

《等位基因寡核苷酸序列PCR在地中海贫血病中检测RhC/c和RhE/e》

摘要：背景 地中海贫血病是一类遗传性疾病，患者部分或完全缺失 α 或 β 珠蛋白链的表达。中型或重型的地贫患者需要从年轻时就进行输血治疗。在为患者准备输注相容性血液时，患者体内针对抗原的同种抗体也许会引起很多问题。在利用细胞凝集实验对患者的血型进行确认时会比较困难，因为患者体内同时存在受者和供者的抗原混合物。**材料和方法** 40例长期输血的地中海贫血患者和10例健康无输血史对照样本，ASO-SSP和细胞凝集实验用于鉴定Rh血型系统中C、c、E、e抗原。**结果** 本研究

中，我们设计了 4 对引物，利用 ASO-SSP 方法扩增 RhC/c 和 RhE/e。在本研究中，我们使用了一个新的反应条件，降低 PCR 退火温度，从 63 度降低到 58 度，这样可以使四个基因在同一反应条件下同时 PCR 扩增。为了评估基因分型的正确性，我们使用凝集实验作为对照，比较两种方法下结果的一致性，结果发现，表型与基因型在实验患者 β 地中海贫血的样本中出现了差异，其它研究对象 2 者结果吻合。**结论** 对比与限制性片段长度多态性 PCR (RFLP-PCR)，ASO-PCR 可以在同一时间内完成 4 个基因的扩增，并可以通过电泳立即获得样本的抗原分型。ASO-SSP 的简洁性使该方法应用于临床机构的常规检测成为可能，而且这种方法的成本要低于 RFLP-PCR。而且，细胞凝集与 PCR 结果的不一致是因为在患者体内供受者血液同时存在造成的。