·调查报告·

深圳地区 Rh 阴性无偿献血者血清学表型与不规则抗体调查

郑望春，杨转笑，容　莹，孙秀双，方　瑛
（深圳市龙岗区血站，广东深圳 518172）

摘　要：目的　调查深圳地区 Rh 阴性献血者血清学表型和不规则抗体的抗体分布情况，为安全输血提供依据。**方法**　应用微量板盐水法筛选 RhD 阴性献血者、用间接抗人球蛋白试验（IAT）确认及吸收放散，不规则抗体筛选及鉴定 C、c、E、e 抗原表型。**结果**　120 566 献血者初筛出 456 份 RhD 阴性（0.38%）；确认为弱 D/部分 D 33 份；吸收放散实验共筛出 Del 表型 89 份，其中 Ccee 59 例（66.29%）、CCee 16 例（17.98%）、CcEe 7 例（7.87%）、ccEe 6 例（6.74%）和 CCEe 1 例（1.12%）。456 份 Rh 阴性标本检出血清含有不规则抗体的标本有 6 例（1.32%），其中 IgG 类抗-D 抗体 4 例，均有妊娠输血病史。**结论**　深圳地区 Rh 阴性无偿献血者血清学具有多种表型，以 dccee 表型为主；有少数人产生不规则抗体，大多与有妊娠史、输血病史相关。

关键词：Rh-Hr 血型系统；　表型；　抗体
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.10.026　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)10-1256-02

A investigation in Rh phenotype and Irregular antibody of RhD(－) donors in Shenzhen

Zheng Wangchun, Yang Zhuanxiao, Rong Ying, Sun Xiushuang, Fang Ying
(*Blood Station of Longgang District, Shenzhen, Guangdong* 518172, *China*)

Abstract: Objective　To study Rh D negative phenotypes distribution and antibody screen in blood donors in Shenzhen area. **Methods**　RhD phenotype was initially screened by routine serological test. All of weak D or partial D phenotype was detected by indirect anti-globulin test (IAT), and Del phenotype was detected by absorption-elution test. The CcEe phenotypes and Irregular antibody were detected. **Results**　A total of 456 RhD(－) were confirmed in 120566 donors, among 33 samples were weak D or partial D, and 89 samples were Del. The CcEe phenotypes of Del were Ccee(66.29%), CCee(17.98%), CcEe(7.87%), ccEe(6.74%) and CCEe(1.12%). A total of 6 cases were positive for irregular antibody, including 4 for anti-D and 2 for cold antibody. **Conclusion**　The Rh D(－) phenotype of donors in shenzhen area was variety, primarily phenotype was dccee. The few donors had irregular antibodies due to pregnancies or transfusions.

Key words: Rh-Hr blood-group system;　phenotype;　antibodies

已发现人类有 29 个血型系统，Rh 血型系统是人类红细胞血型系统中最为复杂且最具多态性的系统[1]，在临床的重要性仅次于 ABO 血型系统，而且其分子机理又非常复杂。可引起溶血性输血反应、新生儿溶血病以及自身免疫性溶血性贫血。到目前为止已发现至少 49 种抗原，其中涉及临床问题的 Rh 血型抗原主要有 D、C、C、E、e 这 5 种。Rh(D) 还存在一些变异体，如部分 D、弱 D 和 Del 等。研究者对深圳地区 Rh 阴性献血者血清学表型及变异体与不规则抗体进行了调查分析。

1　资料与方法

1.1　一般资料　2011 年 1 月 1 日至 2012 年 12 月 30 日深圳市血液中心和深圳市龙岗区血站的初次无偿献血者共 120 556 名。用抗-D(IgM)试剂采用微板盐水法对所有样本进行初筛。

1.2　仪器与试剂　Xantus 全自动加样仪（瑞士公司），KA-2200 型离心机（日本 Kubota 公司），Anthos ht3 比色仪（奥地利 Anthos 公司），VORTEX-Gel 漩涡振荡器（美国 VORTEX-GENIE 公司）。Rh 阴性初筛使用单克隆 IgM 和 IgG 抗-D 混合剂（美国 Immucor 公司）；IAT 确认采用 2 种不同克隆株的单克隆 IgM 和 IgG 抗-D 混合剂（美国 Immucor 公司）和 1 种抗-D(IgG)（上海血液生物医药公司）；吸收放散采用以上试剂混合；抗 C、抗 c、抗 E、抗 e、抗-A、抗-B 标准血清、筛选细胞、谱细胞、凝聚胺介质试剂均由上海血液生物医药公司提供；抗人球蛋白试剂（美国 Immucor 公司），上述试剂均在有效期内使用。

1.3　方法

1.3.1　盐水微板法初筛 Rh 表型　初筛使用单克隆 IgM 和 IgG 抗-D 混合剂进行盐水微板初筛[2]，分别用抗 C、抗 c、抗 E 和抗 e 试剂对 Rh 阴性标本进行生理盐水试管法血清学分型。

1.3.2　间接抗人球蛋白试验（IAT）鉴定弱 D/部分 D 表型　初筛阴性者受检红细胞分别与 3 种不同来源的单克隆抗-D（IgM ＋ IgG）或 抗-D（IgG）进行 IAT，同时做阴阳对照。抗-D 血清 50 μL 加 50 μL 2%～5%红细胞悬液，混匀，37 ℃孵育 30 min，生理盐水洗涤 3 次，加抗球蛋白试剂 1 滴，混匀，1 000×g 离心 15 s，肉眼和镜下观察结果，如果其中至少 1 管阳性，就判定为弱 D/部分 D。

1.3.3　乙醚吸收放散法进一步鉴定 Del 表型　将 IAT 试验阴性者红细胞用生理盐水洗涤 3 次，末次盐水去尽，得压积红细胞。取压积细胞 1 份加等量抗-D 血清（可将几种抗-D 等量混合使用），混匀，37 ℃水浴 孵育 30 min，生理盐水洗涤 3 次得压积红细胞。然后取压积红细胞 1 份加等量生理盐水混匀，再加 2 份乙醚，剧烈震荡 2～3 min，1 000×g 离心 5 min，小心吸出下层放散液，置 37 ℃水浴 10 min 排掉多余的乙醚，1 000 g 离心 1 min，小心吸取底层放散液 100 μL 加 3%O 型 Rh(D)阳性红细胞悬液 50 μL 混匀，37 ℃水浴孵育 30 min，生理盐水洗涤 3 次，弃尽上清液，加抗球蛋白试剂 1 滴，1 000×g 离心 15 s，肉眼和镜下观察结果，凝集者确定为 Del 型。

1.3.4　抗体筛查与鉴定　受检血清用筛选细胞（3 个筛选细

作者简介：郑望春，女，副主任检验技师，主要从事输血安全研究。

胞)与自身细胞为一组,含常见抗原:D,C,E,c,e,M,N,S,s,P,Lea,Leb,K,k,Fya,Fyb,Jka,Jkb),用盐水法与凝聚胺试验筛查不规则抗体,阳性时再用谱细胞(10 个谱细胞)与自身细胞为一组进一步鉴定其特异度。

2　结　　果

2.1　RH 阴性检出比例　120 556 份标本中共初筛确认 Rh 阴性 456 例(0.38%),Rh 阴性献血者中 ABO 血型分布的结果:A 型 134 例(29.3%),B 型 128 例(28.1%),O 型 163 例(35.7%),AB 型 31 例(6.9%)。

2.2　Rh 阴性献血者 C、c、E、e 抗原表现型分布　见表 1。Rh 阴性血型 C、c、E、e 抗原表现型以 ccee(53.29%)和 Ccee(36.40%)居多,未见 ccEE 和 CcEE 表现型。

表 1　456 名初筛为 RhD 阴性献血者 C、c、E、e 抗原表现型分布表(*n*)

项目	ccee	Ccee	CcEe	CCee	ccEe	CCEe
A	73	47	3	7	3	1
B	71	43	5	4	5	0
O	84	63	3	10	2	1
AB	15	13	1	2	0	0
合计	243	166	12	23	10	2

2.3　弱 D/部分 D 性献血者 C、c、E、e 抗原表现型分布　见表 2。

表 2　33 名弱 D/部分 D 性献血者 C、c、E、e 抗原表现型分布表(*n*)

项目	ccee	Ccee	CcEe	CCee	ccEe	CCEe
A	3	3	1	1	0	0
B	3	5	0	1	0	0
O	2	4	1	2	2	0
AB	2	1	1	0	1	0
合计	10	13	3	4	3	0

2.4　Del 献血者 C、c、E、e 抗原表现型分布　见表 3。

表 3　89 名 Del 献血者 C、c、E、e 抗原表现型分布表(*n*)

项目	ccee	Ccee	CcEe	CCee	ccEe	CCEe
A	0	14	1	4	3	0
B	0	15	3	6	0	0
O	0	23	3	5	2	1
AB	0	7	0	1	1	0
合计	0	59	7	16	6	1

2.5　血清不规则抗体筛查结果　456 例 Rh 阴性献血者血清中检出含有不规则抗体的 6 例(0.13%),其中 IgG 类抗 D 抗体 4 例,冷抗体 2 例。33 例 RhD 弱 D/部分 D 的血清中未检出不规则抗体。4 例 IgG 类抗 D 抗体均为 ccdee 血清学表型。对其随访调查,随访到抗-D 女性 2 名有妊娠史;男性 2 名,有输血史。

3　讨　　论

Rh(D)血型分为阳性和阴性 2 类。根据红细胞表面 D 抗原数目的多寡,RhD 阴性以外的 RhD 表型可分为 4 类:(1)D-等表型红细胞表面 RhD 抗原数增加,可达 7.5 万个至 20 万个;(2)常见表型每个红细胞带有 1 万至 3.3 万个抗原;(3)罕见的 Rh 缺失型;(4)RhD 抗原数量减少的变异体,又可分为弱 D、部分 D 和 DEL 3 类[3]。这些 RhD 弱表达变异体的检测及其在输血上的意义,也成为近年来免疫血液学领域中的研究热点之一[4-5]。由于 D 抗原是由 1 号染色体短臂上的 Rh 基因表达,D 基因重组、缺失、点突变、无义突变以及 mRNA 的表达水平下降均会导致红细胞出现变异体抗原改变[6]。弱 D 表型与 D 抗原基本上无区别,只是比 Rh(D)阳性常见表型的红细胞膜上的 D 抗原位点少,表达减弱。部分 D 表型由多个独立的抗原决定簇组成,缺乏部分正常 D 抗原的表达。Shao 等[7]推测 Del 是弱 D 类型中的一种,且不同 Del 个体红细胞上所含的 D 抗原分子数量可能不同。弱 D 型仅有 70～4 000 个抗原位点。Del 型表面红细胞抗原数量更少,Wagner 等[8]发现 Del 型每个红细胞上的 D 抗原分子数可能在 30 个以下。但到目前为止,还不能确定 Del 红细胞上 D 抗原位点的具体数目。

深圳是一座“移民”城市,人口来自全国各地,本研究所获得的抗原频率可以粗略反映相应抗原在中国汉族人群中的分布。我国汉族人群中 RhD 阴性者仅占 0.35%～0.49%,大大低于白种人的 15%,属于稀有血型。深圳地区市无偿献血者 Rh 阴性(IAT 法)血型频率为 0.35%,与庄杰等研究结果一致[9]。Rh 系统的其他主要抗原有 C、c、E 及 e,深圳地区 RhD 阴性人群中以 ccee 和 Ccee 为主,与上海地区 RhD 阴性人群的表型相近[10]。

弱 D 的不同地区的分布有较大差异,高加索人群中最常见的 D 变异体为弱 D,约占人群比例的 0.2%～1%[11],本文获得的弱 D/部分 D 表现型频率(0.03%)明显低于高加索人的研究报道,可能与种群间差异有关,也可能与目前使用的高效价抗-D 单克隆抗体初筛试剂有关,因为一部分 D 抗原位点数目较多的弱 D 表型个体和一些部分 D 表型,在初筛时即呈阳性反应,而被判断为 Rh 阳性。国外类似研究开展较早,一些至今仍用的弱 D 抗原频率数据来自于高效价抗单克隆抗体试剂广泛使用之前。国外许多作者报道弱 D 和部分 D 表型个体作为供血者或受血者产生或发生输血反应或胎母免疫反应。

所有 Del 红细胞膜 D 抗原的分子数均显著减少,但有些基因型 Del 的 D 抗原可能缺失部分 D 抗原表位,有些基因型的 Del 或基本拥有完整的 D 抗原表位。国外已有 Del 型胎儿或红细胞免疫 RhD 阴性孕妇和 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[4,8]。但目前国际上,包括我国均不检测 Del 型,仍将其视为 RhD 阴性受者或供者[12]。进一步研究阐明 DEL 型的性质,对于组织血源和临床实践具有重要意义。Shao 等[7]的研究表明 Del 型多见于亚洲人群,其在 IAT 确认为 RhD 阴性的人群中约占 10%～30%。本研究共筛查出 Del89 例,在 IAT 确认为 RhD 阴性的人群中占(89/423)21.04%,与 Shao 的研究结果相一致。主要表型分布为 RhCcee(66.29%)和 RhCCee(17.98%),与 RhCE 有关。以上结果与叶健忠等[13]的研究结果一致,但与马宏伟等[14]报道的河南地区人群分布情况不一致,首先可能是由于研究对象的不同和采样量的差别,其次吸收放散试验的影响因素造成的,但最根本的遗传背景的差别尚需从分子水平做更深入的研究。建议在进行 IAT 判定 Del 时要同时用几种抗 D 试验;进一步研究抗 D 质量与吸收放散试验的关系或吸收放散试验的影响因素。

对初筛 RhD 阴性的无偿献血者做抗体筛查时,抗体筛查阳性 6 例(1.31%),其中抗-DIgG 型抗体 4 例。(下转第 1270 页)

than 20 years[J]. Can J Gastroenterol, 2009, 23(9): 632-634.

[4] Roufosse F, Weller PF. Practical approach to the patient with hypereosinophilia[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 126(1): 39-44.

[5] 李敦臣，姜荣燕. 40 例儿童嗜酸性粒细胞增多症临床分析及远期随访[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志，2009，14(3)：141-142.

[6] 陈曦，刘灿，翁义锐，等. 过敏反应性疾病不同时期总 IgE 及 EOS 水平的探讨[J]. 中原医刊，2006，33(6)：85-86.

[7] Jenerowicz D, Czarnecka-Operacz M, Silny W, Peripheral blood eosinophilia in atopic dermatitis[J]. Acta Dermatovenerol Alp Panonica Adriat, 2007, 16(2): 47-52.

[8] Massanari M, Holgate ST, Busse WW, et al. Effect of omalizumab on peripheral blood eosinophilia in allergic asthma[J]. Respir Med, 2010, 104(2): 188-196.

[9] Yüksel B, Aydemir C, Ustündag G, et al. The effect of treatment with montelukast on levels of serum interleukin-10, eosinophil cationic protein, blood eosinophil counts, and clinical parameters in children with asthma[J]. Turk J pediatr, 2009, 51(5): 460-465.

[10] 陈韶红，李浩，陈家旭，等. 对并殖吸虫病患者外周血中嗜酸性粒细胞相关性的初步观察[J]. 中国兽医寄生虫病，2007，15(1)：17-19.

[11] 黄仁刚，江南，杨兴祥，等. 肝脏寄生虫感染 48 例临床分析[J]. 四川医学，2012，33(4)：608-611.

[12] Mazur-Melewska K, Mania A, Figlerowicz M, et al. The influence of age on a clinical presentation of Toxocara spp. infection in children[J]. Ann Agric Environ Med, 2012, 19(2): 233-236.

[13] Jeon EJ, Lee KM, Jung DY, et al. Clinical characteristics of 17 cases of eosinophilic gastroenteritis[J]. Korean J Gastroenterol, 2010, 55(6): 361-367.

[14] Tien FM, Wu JF, Jeng YM, et al. Clinical Features and Treatment Responses of Children With Eosinophilic Gastroenteritis[J]. Pediatr Neonatol, 2011, 52(5): 272-278.

[15] Maâmouri N, Guellouz S, Belkahla N, et al. Eosinophilic gastroenteritis[J]. Rev Med Interne, 2012, 33(8): 421-425.

[16] Sheikh RA, Prindiville TP, Pecha RE, et al. Unusual presentations of eosinophilic gastroenteritis: case series and review of literature[J]. World J Gastroenterol, 2009, 15(17): 2156-2161.

[17] 樊景云，黄宗文，郭佳，等. 嗜酸性胃肠炎 30 a 中文文献回顾分析[J]. 中国误诊学杂志，2007，7(28)：6758-6760.

[18] 陶利萍，吴小丽，黄智铭. 嗜酸细胞性胃肠炎的临床及内镜特点分析[J]. 实用医学杂志，2011，27(21)：3922-3924.

[19] Chusid MJ, Dale DC, West BC, et al. The hypereosinophilic syndrome: analysis of fourteen cases with review of the literature[J]. Medicine, 1975, 54(1): 1-27.

[20] Simon HU, Rothenberg ME, Bochner BS, et al. Refining the definition of hypereosinophilic syndrome[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 126(1): 45-49.

[21] Ogbogu PU, Bochner BS, Butterfield JH, et al. Hypereosinophilic syndrome: a multicenter, retrospective analysis of clinical characteristics and response to therapy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2009, 124(6): 1319-1325.

[22] El-Osta H, El-Haddad P, Nabbout N. Lung carcinoma associated with excessive eosinophilia[J]. J Clin Oncol, 2008, 26(20): 3456-3457.

[23] Costain DJ, Guha AK, Liwski RS, et al. Murine hypodense eosinophils induce tumour cell apoptosis by a granzyme B-dependent mechanism[J]. Cancer Immunol Immunother, 2001, 50(6): 293-299.

[24] 朱燕凤. 外周血嗜酸性粒细胞对隐球菌病疗效评估的展望[J]. 临床药物治疗杂志，2010，8(4)：49-51.

（收稿日期：2013-01-12）

（上接第 1257 页）

国外很多国家已将不规则抗体筛查列入血液制品常规检验，而我国尚未要求对血液制品中的不规则抗体进行筛查。血浆及血小板的输注原则是按照 ABO 血型相容输注，不进行交叉配血。而多数血站在未对 RhD 阴性献血者血液进行抗体筛查的情况下，就将血浆或血小板用于临床 RhD 阳性患者输注，当输注的血液制品中含有不规则抗体时（如抗-D、-C），则可能会引起急性或迟发性输血反应。因此为避免患者输用含有不规则抗体血液制品而引起输血反应，采供血机构有必要考虑先对 RhD 阴性血浆进行抗体筛查，特别是对有妊娠史或输血史的献血者进行不规则抗体筛选。对含有不规则抗体的血液，可以使用洗涤红细胞，从而避免血源的浪费，提高输血的安全性和有效性，减少临床输血不良反应及抗体的产生。

（志谢：本研究受到深圳市血液中心输血研究所的支持，在此对他们表示诚恳的谢意。）

参考文献

[1] 杨波. Rh 血型系统的多态性研究进展[J]. 中国输血杂志，2007，20(4)：355-358.

[2] 胡继征，陆典瑞，李启辉，等. 全自动微板法筛查献血者 Rh 血型 D 抗原的检测方法[J]. 河南科技大学学报：医学版，2005，23(4)：251.

[3] 赵桐茂. RhD 抗原变异体及其在输血中的意义[J]. 中国输血杂志，2008，21(1)：1-4.

[4] Gassner C, Doescher A, Drnovsek TD, et al. Presence of RHD in serologically D-, C/E+ individuals: a European multicenter study[J]. Transfusion, 2005, 45(4): 527-538.

[5] Daniels G, Poole J. Partial D and weak D: can they be distinguished[J]. Transfus Med, 2007, 17(2): 145-146.

[6] Avent ND, Martin PG, Arm strong-F isher SS, et al. Evidence of genetic diversity underlying Rh D-, weak D (Du), and partial D phenotypes as determined by multiplex polymerase chain reaction analysis of the RHD gene[J]. Blood, 1997, 89(7): 2568-2577.

[7] Shao CP, Xiong W, Zhou YY. Multiple isoforms excluding normal RhD mRNA detected in Rh blood group Del phenotype with RHD 1227A allele[J]. Transfus Apher Sci, 2006, 34(2): 145-152.

[8] Wagner T, Kormoczi GF, Buchta C, et al. Anti-D immunization by DEL red blood cells[J]. Transfusion, 2005, 45(4): 520-526.

[9] 庄杰，赵龙友，纪勇平，等. 丽水市 Rh 阴性献血者血清学表型和不规则抗体调查[J]. 中国输血杂志，2012，25(6)：578-579.

[10] 周国平，谢云峥，向东，等. 上海市 Rh 阴性献血者 D 变异型与不规则抗体调查[J]. 临床检验杂志，2009，27(3)：233-234.

[11] Flegel WA. Blood group genotyping in Germany[J]. Transfusion, 2007, 47(1 Suppl): S47-53.

[12] 章 旭，林凤秋，李剑平，等. DEL 型个体抗体筛选的调查分析[J]. 中国输血杂志，2009，22(10)：796-799.

[13] 叶健忠，杨向萍，蔡于旭，等. 海南汉族 RhD 阴性个体 RH D 基因研究[J]. 中国输血杂志，2005，18(2)：97-100.

[14] 马宏伟，别立莉，陈赞，等. 河南省献血者 Rh 阴性表型调查分析[J]. 中国输血杂志，2009，22(10)：831-833.

（收稿日期：2013-01-18）