

常州地区 *RHD* 变异型基因分型及特征分析*

杨红梅^{1,2} 邹昕^{1,2} 虞茜^{1,2} 熊玉琪^{1,2} 许飞^{1,2} 马思飞^{1,2} 徐立^{1,2}

[摘要] 目的:研究常州地区献血人群中 *RHD* 变异型基因型及表型特征。方法:收集 41 例常州地区献血者 *RHD* 变异型样本,对其进行 *RHD* 血清学鉴定、不规则抗体筛查、RhCcEe 表型测定及 PCR-SSP 方法分型 *RHD* 基因,必要时对 *RHD* 基因 10 个外显子进行测序。结果:41 例血清学 *RHD* 变异型基因多态性以 *RHD** *weak partial* 15、*RHD** *DVI*. 3 及 *RHD** *DEL*1 为主,其中 *RHD** *weak partial* 15 约占 34.1% (14/41)、*RHD** *DVI*. 3 约占 29.3% (12/41)、*RHD** *DEL*1 约占 17.1% (7/41),基本符合中国人群分布特征。另外发现 *RHD** *weak partial* 15/*RHD** *DEL*1 杂合 1 例、单核苷酸突变的 *RHD* 变异型 3 例,突变位点分别为 692 C>T、467 T>A 和 254 C>T,均未被 ISBT 数据库收录。结论:*RHD** *weak partial* 15 为本地区最常见的 *RHD* 变异型,其常见表型为 ccEe(64.3%)。*RHD* 变异型在常州地区具有丰富的基因多态性,并存在稀有基因型,这些新的基因型位点核苷酸突变为 *RHD* 变异型发生机制研究提供样本来源,为 *RHD* 变异型精准输血提供基础。

[关键词] 献血者;基因型;表现型;*RHD* 变异型

DOI:10.13201/j.issn.1004-2806.2022.10.011

[中图分类号] R457.1 **[文献标志码]** A

Genotyping and phenotyping in *RHD* variants of Changzhou

YANG Hongmei^{1,2} ZOU Xin^{1,2} YU Xi^{1,2} XIONG Yuqi^{1,2}

XU Fei^{1,2} MA Sifei^{1,2} XU Li^{1,2}

(¹Changzhou Blood Center, Changzhou, 213000, China; ²Changzhou Key Laboratory of Clinical Blood Transfusion)

Corresponding author: XU Li, E-mail: xulion@126.com

Abstract Objective: To study the genotype and phenotypic characteristics of *RHD* variant in Changzhou blood donors. **Methods:** *RHD* serological identification, irregular antibody screening and RhCcEe antigen typing were performed on 41 blood donors by test tube and microcolumn agglutination. The 10 exons of *RHD* gene were classified by PCR-SSP, the 10 exons of *RHD* gene were sequenced in parts samples. **Results:** The 41 serological polymorphisms of *RHD* variants were mainly *RHD** *weak partial* 15, *RHD** *DVI*. 3 and *RHD** *DEL*1. *RHD** *Weak partial* 15 accounted for 34.1% (14/41), *RHD** *DVI*. 3 accounted for 29.3% (12/41) and *RHD** *DEL*1 for 17.1% (7/41), which basically matched the distribution characteristics of Chinese population. In addition, there was 1 case of *RHD** *weak partial* 15/*RHD** *DEL*1 heterozygous, 1 case of T>A homozygous mutation of base 467 on exon 3, 1 case of C>T mutation of base 692 on exon 5 and 1 case of C>T mutation of base 254 on exon 2. The latter two mutations were not included in ISBT database. **Conclusion:** The gene structure of *RHD* variants in Changzhou was polymorphic, also rare genotypes. The nucleotide mutations of these new genotypes may provide samples for further research on the mechanism of *RHD* variants, and provide a basis for accurate blood transfusion of *RHD* variants in China.

Key words blood donors; genotype; phenotype; *RHD* variants

RH 血型系统是最复杂、最具多态性的血型系统,其基因位于 1 号染色体短臂 3 区 6 带(1p36.2-34),同时也是最重要的一个血型系统,在临床输血、移植医学和产前诊断中具有重要意义。其主要抗原有 D、C、c、E、e 5 种抗原,D 抗原免疫原性最强;大部分个体 *RHD* 抗原采用试管法直接离心即

可检出,随着试剂抗体不断进步,部分弱 D 能与 IgM 型抗 D 试剂凝集,但其反应很弱。同样,不同厂家不同生产株 IgG 抗 D 与弱 D 反应强度也不一致。少部分个体盐水法阴性而间接抗球蛋白试验阳性,这种个体血型血清学表现为弱 D 表型或部分 D,统称为 *RHD* 变异型^[1-2]。现将 41 例 *RHD* 变异型样本从其血清学鉴定、不规则抗体筛查、RhCcEe 抗原表型、PCR-SSP 基因分型及 *RHD* 基因 10 个外显子测序进行回顾性分析,进一步明确常州地区献血人群 *RHD* 变异型基因多态性,为精准

*基金项目:江苏省英科科创科研基金课题(No:JS2020001);常州市卫健委青年项目(No:QN202133)

¹常州市中心血站(江苏常州,213000)

²常州市临床输血重点专科实验室

通信作者:徐立, E-mail: xulion@126.com

输血提供基础。

1 资料与方法

1.1 资料

选取 2020 年 1 月至 2021 年 12 月我站 124 370 例献血者中全自动血型仪检测 *RHD* 阴性样本 694 例,血样于静脉采集 5 mL,4℃ 保存于 EDTA 抗凝管中。经血清学鉴定为 *RHD* 变异型共 41 例,均为常州地区人群样本。

1.2 仪器与试剂

抗-D(IgM)单克隆抗体、抗-C、抗-c、抗-E、抗-e(均为上海血液生物,部分批号为:20203002,20203002,20203102,20203202,20203301);抗-D(IgM+IgG)血型定型试剂(加拿大 Dominion,517212);抗-D(IgM+IgG)血型定型试剂(英国 Millipore,BME1903A);抗-D(IgG)血型定型试剂抗体(德国 CE,批号:ODM315-3);抗体筛选细胞(匈牙利,批号:702013 等);谱细胞(匈牙利,批号:702013 等);样本稀释液(ID-Diluent2,批号 057610001),微柱凝胶抗球蛋白卡(强生公司,批号:AHC228H);人类红细胞 RhD 血型变异体基因分型试剂盒(天津秀鹏,批号:K202005004、K202008006);DNA 提取试剂(Invitrogen 公司,批号:15101);琼脂糖(北京沃比森,181650);溴化乙锭(10 mg/mL,捷世康)。AB 公司 9700 型 PCR 扩增仪,DNA 浓度测定仪,凝胶成像系统,贝克曼高速离心机,久保田 KA-2200 血清学专用离心机;强生离心机;37℃ 恒温水浴箱;卢湘仪 TD4 低速自动平衡离心机。

1.3 血清学检测

使用抗-D(IgM)单克隆抗体定型试剂对 124 370 例献血者采用全自动血型仪检测 *RHD* 抗原,共筛检 *RHD* 阴性样本 694 例。对 694 例样本使用 3 种不同厂家抗-D 血型定型试剂采用试管法直接离心、凝聚胺、微柱凝胶卡抗球蛋白法检测 *RHD* 抗原,3 种检测方法中任何一种呈阳性,均判断 *RHD* 变异型。同时对 694 例样本进行 RhCcEe 抗原检测及抗体筛选试验。

1.4 PCR-SSP 基因检测

使用 Invitrogen 公司 DNA 提取试剂盒提取患者外周血基因组 DNA,调整 DNA 模板浓度为 30~35 ng/μL, A_{260}/A_{280} 比值为 1.60~1.80,根据人类红细胞 *RHD* 血型变异体基因分型试剂盒说明书设置参数进行 PCR 扩增;取扩增产物于 2% 琼脂糖凝胶中电泳,凝胶成像分析系统并与天津秀鹏试剂盒提供图谱比对分析结果。

1.5 *RHD* 基因外显子测序和 *RHD* 杂合型分析

RHD 基因由 10 个外显子组成,基因长

为 64 956 bp,转录体的 10 个外显子长为 2837 bp,扩增、测序引物设计、特异性扩增 Rh 融合盒子及检测样本是否存在 *RHD* 基因缺失均由天津秀鹏生物技术公司完成。

2 结果

2.1 血清学检测结果

694 例样本中 RhCcEe 表型结果为:ccee 45.1%(313/694),Ccee 36.6%(254/694),CCee 8.1%(56/694),CcEe 4.0%(28/694),ccEe 5.9%(41/694),ccEE 0.3%(2/694),未见 CCEE 及 CcEE 表型。其中 41 例为 *RHD* 变异型,见表 1。

表 1 694 例初筛为 RH 阴性样本与抗-D 试剂在 3 种介质中血清学检测结果

RhCcEe 表型	例数	IS	AHG	Poly
ccee	313	—	—	—
Ccee	244	—	—	—
	10	—	1+~3+	1+
CCee	48	—	—	—
	8	—	1+~3+	—
CcEe	17	—	—	—
	11	—	1+~3+	—
ccEe	29	—	—	—
	12	—	1+~3+	—
ccEE	2	—	—	—

IS:盐水介质立即离心;AHG:抗球蛋白介质;Poly:凝聚胺介质。

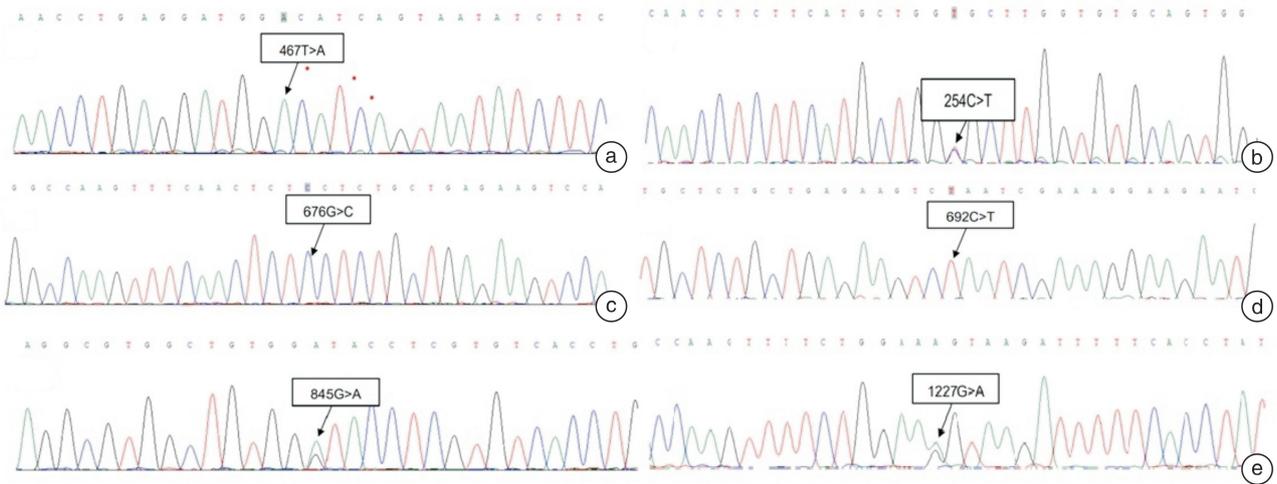
2.2 *RHD* 基因型特征及 *RHD* 基因外显子测序分析

694 例初筛 *RHD* 阴性样本经吸收放散试验确认 *RHD* 表型比例为 19.0%(132/694),完全缺失 *RHD* 基因(d/d)者为 81.0%(562/694)。132 例带有 *RHD* 基因者主要表型为:Del 型(*RHD*1227G>A/d)占 68.9%(91/132),融合型占 31.1%(41/132)。41 例 *RHD* 变异型中:12 例 *RHD** DVI. 3 [*RHD*-*RHCE* (3-6)-*RHD*/d],2 例 *DCS* [*RHD*-*RHCE* (5)-*RHD*/d],7 例 *RHD** DEL1 及 17 例弱 D 型。其弱 D 占 12.9%(17/132),含 14 例弱 D15 型[*RHD* (845G>A)/d],2 例弱 D17 型[*RHD* (340C>T)/d],1 例 *RHD*3* weak partial 15/*RHD** DEL1 杂合;3 例为单核苷酸突变的 *RHD* 变异型,其突变点分别为 692C>T,467T>A 和 254C>T;均未被 ISBT 数据库收录(已提交 NCBI)。41 例 *RHD* 变异型标本与不同厂家的抗-D 试剂反应强度可在阴性至 4+ 分布,其抗筛结果均为阴性。见表 2 和图 1。

表 2 41 例 RHD 变异型血清学、表型及基因型检测结果

编号	抗-D 试剂血清学结果			RH 表型	RHD 杂合型	RHD 基因型
	试剂 1 IgM/IgG	试剂 2 IgM/IgG	试剂 3 IgG			
1	-/1+	-/2+	1+ ^w	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* DEL1
2	-/2+	-/2+	1+	CcEe	RHD+/RHD+	RHD* weak partial 15/ RHD* DEL1
3	-/1+	-/3+	3+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DEL1
4	-/3+	-/3+	3+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
5	-/2+	-/1+	2+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DEL1
6	-/3+	-/1+	3+	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
7	-/3+	-/2+	3+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
8	1+ ^w /4+	-/4+	4+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
9	-/2+	-/2+	2+	Ccee	RHD+/RHD-	c. 467T>A(未收录)
10	-/2+	-/1+	2+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
11	-/1+	-/1+	1+ ^w	CCee	RHD+/RHD-	RHD* DEL1
12	-/2+	-/2+	2+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
13	1+ ^w /3+	1+/4+	3+	CCee	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 17
14	-/2+	-/2+	2+	CCee	RHD+/RHD-	c. 692C>T(未收录)
15	1+ ^w /3+	1+ ^w /3+ ^s	3+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
16	-/3+	-/3+	3+	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* weak D type 17
17	-/2+ ^s	-/3+	3+	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* DEL1
18	-/2+ ^s	-/2+	1+ ^w	CCee	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
19	-/1+ ^s	-/2+	1+ ^w	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
20	-/1+ ^s	-/2+	1+ ^w	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
21	-/2+	-/2+	1+ ^w	CcEe	RHD+/RHD-	c. 254C>T(未收录)
22	-/2+	-/2+	1+	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
23	-/3+	-/3+	3+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
24	-/3+	-/3+	3+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* DCS2
25	1+/4+	1+/4+	4+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
26	-/3+	-/1+	3+	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
27	-/4+	-/4+	4+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
28	1+ ^w /4+	-/4+	4+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
29	-/2+	-/2+	2+	Ccee	RHD+/RHD-	RHD* DCS2
30	-/2+	-/1+	2+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
31	-/1+ ^s	-/1+	1+	CCee	RHD+/RHD-	RHD* DEL1
32	-/2+	-/2+	2+	CCee	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
33	1+/4+	1+/4+	3+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
34	-/2+	-/2+	2+	CCee	RHD+/RHD-	RHD* DEL1
35	1+ ^w /2+	1+ ^w /2+ ^s	3+	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
36	-/3+	-/3+	3+	CCee	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
37	-/2+	-/3+	3+	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3
38	-/2+	-/2+	1+ ^w	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
39	-/2+	-/2+	1+ ^w	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
40	-/2+	-/2+	1+ ^w	ccEe	RHD+/RHD-	RHD* weak partial 15
41	1+/4+	1+/4+	3+	CcEe	RHD+/RHD-	RHD* DVI. 3

试剂 1:加拿大 Dominion 抗-D(IgM/IgG)抗体;试剂 2:英国 Millipore 抗-D(IgM/IgG)抗体;试剂 3:德国 CE 抗-D 单克隆 IgG 抗体。



a: *RHD* c. 467T>A; b: *RHD* c. 254C>T; c: *RHD** DCS2; d: *RHD* c. 692C>T; e: *RHD** 15/ *RHD** DEL1.

图 1 *RHD*10 个外显子测序结果

3 讨论

在 RH 血型系统中, *RHD* 分型一般通过单克隆抗体血清学进行检测, 通常可鉴定出 D 阳性(D⁺)或 D 阴性(D⁻)表型, 并分别提示红细胞表面是否存在抗原。除了这些“常见”表型外, 在极少部分人群中呈现 D 抗原数量表达下调或部分 D 表位缺失的“D 变异表型”。有一些变异 *RHD* 型与正常 *RHD* 抗原氨基酸序列相同, 但拷贝数却少很多, 如不同类型的弱 D, 其红细胞上 D 抗原的拷贝数从 60~5200, 国内报道 D 抗原拷贝数最少的是弱 D17, 仅约 60 个拷贝抗原, *RHD* 阴性受血者经弱 D 同种免疫的报道极少, 现常州地区献血人群中发现 2 例为弱 D17。目前国内采供血机构 *RHD* 变异型检出主要是依赖 *RHD* 阴性确认试验^[3], 但经常出现多次确认结果不一致或确认结果为弱阳性等问题, 此时仅靠 3 种不同厂家抗-D 试剂的抗球蛋白试验也无法得到准确结果, 由此 *RHD* 基因检测为优选的补充方法。国内外有文献报道 *RHD* 基因分布存在地区和种族差异^[4-6], 为 *RHD* 等位基因的核苷酸序列多样性提供丰富资料, 因此对本地区 *RHD* 变异型遗传特征进行调查, 有助于积累更多资料以便于输血管理。

根据 ISBT 等位基因命名表, 目前已确认 *RHD* 变异型等位基因 300 多种, 国内已发现近 70 种, *RHD** *weak partial* 15、*RHD** DVI. 3 和 *RHD** DEL1 为中国汉族人群最常见的 *RHD* 变异型等位基因。本研究结果表明常州地区献血人群 RhD 变异型主要以 *RHD** *weak partial* 15 和 *RHD** DVI. 3 为主, 分别占 34.1% (14/41) 和 29.3% (12/41), 与文献报道调查结果基本一致^[7]。本研究 PCR-SSP 法采用天津秀鹏公司试剂盒, 根据中国人群常见的 *RHD* 变异型设计, 包括 *RHD** *weak partial* 15、*RHD** DVI. 3 和 *RHD**

DEL1 在内的 16 种 *RHD* 变异型, 适用于我国采供血机构 *RHD* 变异型基因分型的常规筛查。本研究的 41 例样本中发现 1 例为 *RHD** *weak partial* 15/*RHD** *DEL1* 杂合样本, 其突变位置在 *RHD* 基因的第 6 个外显子、第 9 跨膜区(c. 845G>A, *pGly282Asp*) 和第 9 外显子上的第 1227 号碱基发生了 G>A 的纯合突变(c. 1227G>A, *pLys409 Lys*), 推测该突变可能会影响细胞膜整合, 从而影响 *RHD* 蛋白和 D 抗原的合成表达。*RHD* 变异型由 *RHD* 基因内的遗传改变引起。在分子水平上认为改变预测位于蛋白质细胞外结构域中氨基酸的错义单核苷酸变体通过改变其暴露的 D 表位性质导致部分 D 表型。相反改变位于 *RHD* 蛋白的跨膜螺旋或细胞内环中的氨基酸会被认为破坏了蛋白质折叠或稳定性, 分子内或分子间相互作用和(或)红细胞质膜内整合, 诱导 *RHD* 抗原表达的显著降低导致弱 D 表型^[8-12]。

本研究还发现 3 例单核苷酸突变的 *RHD* 变异型标本, 均并未被 ISBT 数据库收录(正提交 NCBI 命名中)。样本 9 在第 3 外显子上的第 467 号碱基发生了 T>A 的纯合突变和样本 14 在第 5 外显子上的第 692 号碱基发生了 C>T 的纯合突变, 均为新基因突变。样本 21 在第 2 外显子上发生了 254 C>T 的杂合突变, 但在 *RHD* 基因分型检测过程中, 检测到完整 RH 盒子序列, 可确定该样本有一条染色体上缺失了全部 *RHD* 基因, 这与测序结果相悖。造成该现象的可能原因为该样本 *RHCE* 基因包含 *RHCE** C 等位基因。而 *RHCE** C 等位基因的第 2 外显子与 *RHD* 基因的第 2 外显子完全相同, 测序检测到未突变的第 2 外显子序列为 *RHCE** C 等位基因而非 *RHD* 基因的第 2 外显子。同时对该样本进行的 *RHCE* 基因分型, 其检测结果为 *RHCE** CcEe 型, 进一步验证

以上猜测。

综上所述,本研究通过本地区献血人群 41 例血清学 RHD 变异型基因多态性,初步了解其分布特征。对于出现定量缺陷的患者表达正常 D 抗原,尽管密度较低也可以安全地输注 RHD 阳性红细胞。相反,出现定性缺陷的患者表现出改变的 D 抗原,其特征在于没有一个或多个 D 表位,建议输注 D 阴性红细胞以防止同种异体免疫。尤其是不同 RHD 变异型在受血者、孕妇和献血者人群中应合理区别对待,为精准输血治疗及建立 RHD 变异型数据库提供样本来源及理论基础。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Souza Silva TC, Cruz BR, Costa SS, et al. RHD and RHCE molecular analysis in weak D blood donors and in patients with Rh antibodies against their own corresponding Rh antigen[J]. *Blood Transfus*, 2020, 18(4):295-303.
 - [2] Westhoff CM, Nance S, Lomas-Francis C, et al. Experience with RHD* weak D type 4.0 in the USA[J]. *Blood Transfusion*, 2019, 17:91-93.
 - [3] 朱自严. 红细胞血型抗原的同种免疫[J]. *临床输血与检验*, 2022, 24(1):1-5, 103.
 - [4] Trucco Boggione C, Nogués N, González-Santesteban C, et al. Characterization of RHD locus polymorphism in D negative and D variant donors from Northwestern Argentina[J]. *Transfusion*, 2019, 59(10):3236-3242.
 - [5] 温机智,贾双双,廖志坚,等. 32 名 RhD 变异型献血者分子遗传背景研究[J]. *中国输血杂志*, 2019, 32(2):154-157.
 - [6] Gao M, Chen YP. The RhD variants in Chinese population[J]. *Blood Genom*, 2020, 4(1):31-38.
 - [7] Yin Q, Srivastava K, Brust DG, et al. Transfusion support during childbirth for a woman with anti-U and the RHD* weak D type 4.0 allele[J]. *Immunohematology*, 2021, 37(1):1-4.
 - [8] 吴凡,梁爽,彭龙,等. 38 例血清学弱 D 表型献血者 RhCcEe 表型与 RHD 基因型检测情况分析[J]. *临床输血与检验*, 2021, 23(5):632-639.
 - [9] Thongbut J, Raud L, Férec C, et al. Comprehensive Molecular Analysis of Serologically D-Negative and Weak/Partial D Phenotype in Thai Blood Donors[J]. *Transfus Med Hemother*, 2020, 47(1):54-60.
 - [10] Rupinder KB, Shaiji PS, Sehgal S. Testing for weak D Antigen; Spectrum and its applied role in rhesusnegative transfusions in Andaman and Nicobar Islands[J]. *Tzu Chi Medical*, 2020, 32(2):167-170.
 - [11] 李菲,陈伟,李慧君,等. 新疆 RhD 阴性及其表型特点调查分析[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(2):126-129.
 - [12] 王玉青,韩增林,张秀铮. RhD 阴性育龄妇女中 RHD1227A 基因型检测的临床意义[J]. *临床血液学杂志*, 2020, 33(12):866-868.
- (收稿日期:2022-03-03 修回日期:2022-05-07)
-
- (上接第 738 页)
- [5] Shattil SJ, Motulsky HJ, Insel PA, et al. Expression of fibrinogen receptors during activation and subsequent desensitization of human platelets by epinephrine[J]. *Blood*, 1986, 68(6):1224-1231.
 - [6] 傅晓岚,陈兆珍,成晓玲,等. 流式细胞仪双色术检测机采血小板活化方法[J]. *第三军医大学学报*, 2003, (18):1672-1673.
 - [7] 姚勇,张欢欢,孙振超,等. 3 种血小板分离机采集血小板活化和功能的分析[J]. *临床血液学杂志*, 2021, 34(2):127-129.
 - [8] 夏薇,陈婷梅,王霄霞. *临床血液学检验技术*[M]. 北京:人民卫生出版社, 2018:46-47.
 - [9] 山媛,胡军,赵瑞,等. PAC-1、CD62P 水平在早期诊治和预测脑梗死病情程度中的价值[J]. *中华保健医学杂志*, 2019, 21(6):562-564.
 - [10] 钟淑萍,李学刚,何志国,等. 系统性红斑狼疮患者血小板 PAC-1 和 CD62P 表达的研究[J]. *新医学*, 2013, 44(11):779-782.
 - [11] 李勇,李一. *实用血小板免疫生物学*[M]. 北京:科学技术出版社, 2019:254-255.
 - [12] Yee DL, Sun CW, Bergeron AL, et al. Aggregometry detects platelet hyperreactivity in healthy individuals[J]. *Blood*, 2005, 106(8):2723-2729.
 - [13] Garner SF, Jones CI, Stephens J, et al. Apheresis donors and platelet function: inherent platelet responsiveness influences platelet quality[J]. *Transfusion*, 2008, 48(4):673-680.
 - [14] Fontana P, Dupont A, Gandrille S, et al. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated with P2Y12 gene sequence variations in healthy subjects[J]. *Circulation*, 2003, 108(8):989-995.
 - [15] Metcalfe P, Williamson LM, Reutelingsperger CP, et al. Activation during preparation of therapeutic platelets affects deterioration during storage; a comparative flow cytometric study of different production methods[J]. *Br J Haematol*, 1997, 98(1):86-95.
- (收稿日期:2022-05-10 修回日期:2022-06-19)