

## ABO 最近研究

### 2020 年 9 月

#### 编者导读:

1901 年, Karl Landsteiner 发现了首个人类红细胞抗原血型系统——ABO 血型系统。时至今日, ABO 血型系统仍然是临床输血医学中最重要的因素, 并涉及到许多人类疾病。本月期刊检索了近 3 年国内外公开报导的 ABO 血型系统相关多篇优秀文献, 发现针对 ABO 的最近研究主要包括以下几个方面: ABO 基因转录调控机制、ABO 与疾病、ABO 与移植、ABO 基因分型方法以及 ABO 亚型鉴定。每个方面挑选几篇文献, 以便阅读。在此郑重感谢所有文章作者所做出的努力及贡献。编者仅为收录方便学习, 无观点诱导及评判, 亦无商业目的。

共计 17 篇文献, 主要内容如下:

#### (1) ABO 基因转录调控机制: 4 篇 (1-4)

ABO 血型抗原不仅表达于红细胞表面, 在多种组织的上皮细胞、内皮细胞中也有表达。在细胞发育、分化、成熟过程中 ABO 抗原表达状态发生一系列变化, 在一些疾病, 如血液系统疾病、恶性实体瘤的进程中, 红细胞及组织中 ABO 抗原的表达水平也会发生改变。认识调控 ABO 基因转录的分子机制, 可能有助于解释糖基转移酶编码区的遗传变异无法解释的弱 A/B 表型、ABH 抗原在癌变等疾病过程中消失的原因等, 并为 ABO 不合器官移植提供新的治疗靶点。

#### (2) ABO 与疾病: 4 篇 (5-8)

5: A/B/AB 型个体高血脂、血栓、心肌梗死、心脏病风险高; O 型个体高血压风险高。

6: A 型个体 COVID-19 风险高; O 型个体 COVID-19 风险低。

7: O 型血小板在动脉栓变时与 VWF 的相互作用比非 O 型血小板少, 提示 O 型血降低心肌梗死风险的潜在机制。

8: O 等位基因携带者 IVIG 相关溶血风险低。

#### (3) ABO 与移植: 2 篇 (9-10)

9: ABO 与肾移植——移植后的前 3 年内, ABO 不合肾移植(ABOi-rTx)死亡率和移植肾丢失率均高于 ABO 相合肾移植(ABOc-rTx)。只有 5 年后的长期结果才有相同的生存率和器官功能。

10: ABO 与干细胞移植——使用达雷木单抗成功治疗了 ABO 血型不合(供者血型为 A 型, 受者血型为 O 型)异基因干细胞移植后发生的难治性纯红细胞再生障碍。

#### (4) ABO 基因分型方法: 2 篇 (11-12)

11: 一步 ABO 基因分型, 直接实时等位基因特异性 PCR 和熔解曲线分析, 无需 DNA 制备。

12: 全血、发根、口腔细胞 ABO 基因分型直接多重等位基因特异性 PCR 扩增。

#### (5) ABO 亚型鉴定: 5 篇 (13-17)

ABO 亚型在血型血清学上主要表现为 ABO 抗原表达的差异, 往往有时表现抗原凝集强度的减弱、混合视野的凝集及正反定型结果的不一致, 引起临床上血型定型或交叉配血困难。在免疫血清学方法鉴定不能明确的情况下, 可进行基因检测明确其血型, 指导临床输血。

## 目录

1 《ABO 基因转录调控机制研究进展》 .....	3
2 《Human ABO gene transcriptional regulation》 .....	7
3 《RUNX1 mutation in a patient with myelodysplastic syndrome and decreased erythrocyte expression of blood group A antigen》 .....	8
4 《Regulation of ABO blood group antigen expression by miR-331-3p and miR-1908-5p during hematopoietic stem cell differentiation》 .....	8
5 《Genetically Determined ABO Blood Group and its Associations With Health and Disease》 .....	10
6 《Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility》 .....	11
7 《Blood group alters platelet binding kinetics to von Willebrand factor and consequently platelet function》 ...	11
8 《ABO zygosity, but not secretor or Fc receptor status, is a significant risk factor for IVIG-associated hemolysis》	13
9 《Clinical outcomes after ABO-incompatible renal transplantation: a systematic review and meta-analysis》 ...	15
10 《Daratumumab for Delayed Red-Cell Engraftment after Allogeneic Transplantation》 .....	16
11 《Rapid and Reliable One-Step ABO Genotyping Using Direct Real-Time Allele-Specific PCR and Melting Curve Analysis Without DNA Preparation》 .....	17
12 《Direct multiplex allele-specific PCR amplification for ABO genotyping from whole blood, hair root and buccal cell》 .....	18
13 《Identification of a novel A2 allele through nt543 substitution》 .....	19
14 《Identification of a novel A allele with a c.731T>C mutation on the ABO*A1.02 allele》 .....	19
15 《Two novel A alleles with c.322C>T or c.410C>T mutations on the ABO*A1.02 allele were identified in the Chinese individuals》 .....	20
16 《临床罕见的类孟买血型检测鉴定(附 1 例报告)》 .....	21
17 《ABO 变异型基因 c.425T>C 突变致 B 抗原弱表达的鉴定分析》 .....	22

# ABO 最近研究专刊

(编辑: 艾丽萍, 张悦, 陈悦妍)

## 1 《ABO 基因转录调控机制研究进展》

作者: 杨晓亚, 李焯, 阳绪华, 马印图, 刘素蕊, 高裕华, 王更银

来源: 中国输血杂志 2020 年 3 月第 33 卷第 3 期

**摘要:** ABO 血型抗原不仅表达于红细胞表面, 在多种组织的上皮细胞、内皮细胞中也有表达。在细胞发育、分化、成熟过程中 ABO 抗原表达状态发生一系列变化, 在一些疾病, 如血液系统疾病、恶性实体瘤的进程中, 红细胞及组织中 ABO 抗原的表达水平也会发生改变。为弄清 ABO 抗原表达变化的调节机制, 本文综述了 ABO 抗原表达相关的转录调控分子基础, 包括 ABO 基因上游、下游和内含子中的转录调控元件及这些区域结合的转录因子的调控作用, 以及与 ABO 基因转录相关的表观遗传调控机制, 反义 RNA 的调控机制, 为系统性的认识调控 ABO 基因转录的分子机制提供参考。

20 世纪初, Karl Landsteiner 发现了首个人类红细胞抗原血型系统 ABO 血型系统。ABO 血型系统包含 A、B 2 种糖类抗原及相应的抗体抗-A 与抗-B。A、B 抗原拥有共同的前体物质——H 抗原。A 型个体带有 N-乙酰半乳糖基转移酶(A 酶), 将 N-乙酰半乳糖加在 H 抗原的岩藻糖末端, 产生 A 抗原; B 型个体带有半乳糖基转移酶(B 酶), 将半乳糖加在 H 抗原糖基末端, 产生 B 抗原; O 型个体不具有 A 酶和 B 酶, 不能生成 A 或者 B 抗原, 故细胞上只有 H 抗原。ABH 抗原的表达方式具有细胞种类特异性, 其表达不仅局限在红细胞表面, 在大多数分泌型个体的分泌物中、在一些上皮细胞(如胃肠道黏膜、泌尿生殖道内皮)上都能发现 ABH 抗原表达, 而在结缔组织、肌肉组织和中枢神经系统中 ABH 抗原不表达。在细胞发育、分化、成熟过程中 ABH 抗原表达状态发生了巨大的变化, 如在从人外周血中新分离纯化的 AC133-CD34+(红系前体细胞表面标记)细胞中几乎检测不到 ABO 基因转录, 而这些细胞在体外培养过程中, 胞内 ABO 基因的转录本逐渐增多, 但随着培养时间延长, 这些细胞 ABH 抗原的表达又逐渐降低。在一些病理过程中, ABH 抗原的表达状态也发生很大变化, 如在某些种类肿瘤细胞中, A/B 抗原表达减弱或完全消失。为认识 ABO 基因表达变化的分子基础, 现着重就 ABO 基因的转录调控机制综述如下。

### 1 ABH 抗原表达概述

ABH 抗原不是 ABO 血型基因直接编码、而是编码糖基转移酶后, 糖基转移酶再将特定的糖链结合到细胞膜表面所形成的抗原。1990 年, Yamamoto 等第 1 次成功克隆出编码 1,3-N-D-氨基半乳糖转移酶基因的 cDNA, 进而阐明了人类 ABO 血型基因的结构。ABO 基因位于第 9 号染色体 q34.2, 由 7 个外显子组成, 长度 19kb; 前 5 个外显子很小, 共编码 79 个氨基酸, 第 6 外显子编码 45 个氨基酸, 最大的第 7 外显子编码 230 个氨基酸。ABO 基因 77% 编码序列位于第 6 和 7 外显子, 因此这 2 个外显子是决定 ABO 基因产物糖基转移酶功能的主要部分。ABO 基因座上有上百种等位基因, 分别对应 A、B 和 O 表型。常见的等位基因包括 A101、A102、A201、B101、O01、O02、O03 等, 等位基因之间高度同源, 只有几个核苷酸的差异。如最常见的 B 表型等位基因 B101, 与 A101 基因 6、7 号外显子上存在 8 个核苷酸的差异, 297A→G、526C→G、657C→T、703G→A、796C→A、803G→C、930G→A、1096G→A, 其中只有 4 个位点的差异导致编码氨基酸的不

同：B101 基因编码产物第 176、235、266、268 位氨基酸分别为甘氨酸、丝氨酸、蛋氨酸和丙氨酸，A101 基因编码产物这几个位置的氨基酸分别为精氨酸、甘氨酸、亮氨酸和甘氨酸。在 ABO 等位基因编码区发生的突变，如单核苷酸多态性、核苷酸片段插入、缺失、基因重组等，可引起 ABO 基因编码物质的改变，从而导致 ABO 血型亚型生成。

## 2 ABO 基因 5'上游区域的转录调控作用

Kominato 等深入研究了 ABO 基因的表达调控。先是利用人胰腺 cDNA 为模板，采用 5'-RACE 的方法证明 ABO 基因第 1 外显子内存在 2 个转录起始位点，转录起始位点位于起始密码子上游，紧邻起始密码。无论是在红系细胞、还是在上皮细胞中，ABO 基因启动子都位于转录起始位点周围-117—+31 位置(第 1 外显子 5'端标记为+1)。ABO 基因启动子的-22—-14 区域与转录因子 Sp1 和 Sp1 样蛋白结合部位的突变，能够影响 ABO 启动子的活性。负调控原件位于-275—-118 区域，它对 ABO 基因转录的抑制作用通过此区域的 N 框(序列 CACNAG)实现。N 框在 ABO 基因启动子上游-196—-191 位置，能够将负调控元件 ABO 组成型启动子阻遏蛋白(RACP)结合到启动子位置：抑制 RACP 和 N 框结合能够导致 ABO 基因表达上调。日本学者早前证明了 ABO 基因转录依靠 CCAAT 序列结合因子 CBF/NF-Y 和转录起始位点上游 3.8kb 的小卫星序列的结合。这个小卫星序列是有 43 个碱基的重复序列，可以重复 1—4 次，重复次数不同，相应基因的转录强度也不同。含有重复 4 次 43-bp 重复序列的增强子具有更强的转录活性。含重复 4 次 43-bp 序列的增强子与含 1 个 43-bp 重复序列的增强子相比转录活性提高 100 倍。一些弱 B 表型就是由于 43-bp 重复序列重复次数减少而引起的。

有研究发现 ABO 基因第 1 外显子上游还存在另 1 个替代启动子和转录起始位点——将从人外周血中分离的 AC133-CD34+细胞做体外培养，采用 5'-RACE 技术分析 AC133-CD34+细胞的 RNA 发现了这个新的转录起始位点，它由 27 个碱基对组成，位于 ABO 基因 CpG 岛的 5'端，已被命名为 exon 1a。ABO 基因转录大部分是从 exon 1 开始的，但是利用 exon 1a 作为转录起始外显子也是很常见的现象；exon 1a 的转录起始活性是细胞种类特异的，红系细胞和上皮系细胞的 ABO 基因都可能从 exon 1a 启动转录。

## 3 ABO 基因 3'下游区域的转录调控作用

ABO 基因的 5'端存在大量高度重复的序列，大部分对 ABO 基因表达调控的研究集中在 ABO 基因的 5'区域；但也有研究显示 ABO 基因的 3'端同样存在高度重复的序列，以及对 ABO 基因表达起重要作用的顺式作用元件，同时无论在红系细胞、还是在上皮系统的细胞中，该区域都存在对 ABO 基因表达起负调控作用的元件，位于 ABO 基因下游大约 2.2kb。此外，在 ABO 基因下游远端，+22.6kb 位点存在能够提高 ABO 启动子活性的正调控元件，并且此调控元件是细胞种类特异的。进一步的染色质免疫共沉淀试验显示，这个位点与上皮细胞特异的转录因子 Elf5 [E74-like factor 5 (ets domain transcription factor)] 结合。在上皮细胞来源的细胞系中，+22.6kb 位点突变影响 ABO 基因与 Elf5 的结合，影响此位点对 ABO 基因表达的正向调节作用。利用 shRNA 干扰转录因子 Elf5 的表达能够影响上皮细胞系中 ABH 抗原的表达，因此在上皮细胞中，ABO 基因表达受基因下游的正调控元件与组织特异性的转录因子 Elf5 的结合所调控。

## 4 ABO 基因内含子的转录调控作用

Sano 等研究发现，ABO 基因内含子 1 中也有调控基因表达的调控元件，其位于 ATG 翻译起始位点 3'方向、+5653 和+6154 核苷酸位点之间，能够以 1 种红细胞特异的方式增强 ABO 基因启动子的活性，与组织限

制性的转录因子 GATA-1 结合从而发挥调控活性，它被命名为 5.8-kb 位点；研究者还进一步发现，删除包含此调控序列的内含子 1，将会导致 Bm 亚型表型，而 Bm 亚型人红细胞上的 B 抗原虽然减弱，但唾液和分泌物中仍含大量的 B 型血型物质，分析原因可能是将 5.8-kb 红细胞特异的正向调控元件删除以后，Bm 等位基因的转录水平下降，导致红细胞系细胞中 B 抗原表达下降，但分泌细胞的 B 抗原不受影响。该团队还检测了 111 个具有 Bm 和 ABm 红细胞表型的人基因组 DNA，发现 110 人的 ABO 基因内含子 1 包括此正调控元件都是缺失状态，而 1005 个其他红细胞表型(B3、A1B3 和 Bx)对照均无此缺失；只有 1 人的 Bm 表型是因为 ABO 基因内含子 1 中 GATA 结合位点突变，影响 GATA 与正调控元件结合从而导致红细胞系细胞中 B 抗原表达下降。他们还发现了 1 种 3kb 的内含子缺失的现象，虽然缺失的长度不同，但是都影响到 GATA 结合位点，因而都导致 Bm 表型。Fennell 等也发现内含子 1 中 GATA 基序突变，引起红细胞血清学试验正反定型不符(正定型为 O，反定型为 4+B)。Am 表型也可能源自相同的分子基础，Oda 等学者发现 ABO 基因内含子 1 GATA 基序中 1 个核苷酸的突变导致了 AmB 表型出现。Takahashi 等检测了 2 例为 Am 表型个体，其 ABO 基因内含子 1 中+5.8-kb 位点有 23 对碱基对缺失，缺失部分包含了 Runt 相关转录因子 1(RUNX1)的结合序列，致使红细胞表面 A 抗原表达减弱。Ying 等也发现 RUNX1 序列中的 1 个位点突变(+5904C>T)降低了红细胞表面 ABH 抗原的表达。上述研究都说明红细胞中 ABH 抗原受转录因子 RUNX1 调控。一些 A3 或 B3 表型的个体也是由于 5.8-kb 位点发生突变而引起的。

## 5 DNA 甲基化及肿瘤中 A/B 抗原的缺失

和许多管家基因一样，ABO 基因包含 1 个典型的 CpG 岛，从转录起始位点上游 0.7kb 一直延伸到转录起始位点下游 0.6kb(从 ABO 基因的 5'侧翼跨过第 1 外显子直达第 1 内含子)，G+C 含量 76%，CpG/GpC 比值为 0.9。与基因组中散在存在的 CpG 位点不同，CpG 岛几乎总是处于非甲基化状态，而在失活的 X 染色体中，在印迹基因的启动子中，在肿瘤形成中以及在老化的过程中，基因的 CpG 岛呈现高甲基化状态。启动子区 CpG 岛甲基化和基因的转录沉默密切相关，在 ABO 基因的转录过程中，启动子区 CpG 岛甲基化同样可以抑制 ABO 基因的表达。Kominato 等检测了多种细胞中 ABO 基因 CpG 岛的甲基化状态，发现在表达 ABH 抗原的细胞系中，ABO 基因重复序列高甲基化 CpG 岛低甲基化；在不表达 ABO 基因的细胞中，整个基因的启动子都是高甲基化的状态；胃癌细胞系 MKN28 不表达 ABO 基因，用 DNA 甲基转移酶抑制剂处理导致 ABO 基因启动子区去甲基化，从而使 MKN28 细胞表达 A 转移酶及 A 抗原。DNA 高甲基化和转录抑制密切相关。在某些疾病病程中，如在肿瘤形成过程中，ABH 抗原表达也在发生变化。许多研究都证实了在肿瘤组织中 A 或 B 抗原表达减少甚至完全消失。肿瘤细胞同时具备基因组范围内低甲基化和特定区域高甲基化的特征，启动子区的 CpG 岛通常是高甲基化的目标区域。针对胃癌细胞系中 ABO 基因的研究显示 ABO 基因启动子区的甲基化导致胃癌细胞系中 A/B 抗原表达缺失。Iwamoto 等针对体外培养细胞的研究也得出同样的结论。血液系统肿瘤患者 ABH 抗原常会发生异常，血液病患者 ABO 血型正反定型不符的现象也经常出现，白血病患者红细胞表面 ABH 抗原缺失导致血型判定困难的事件更是屡屡发生。Bianco 等研究了多种血液系统肿瘤后发现，在 A/B 抗原表达缺失的病例中，大部分患者 ABO 基因的 mRNA 表达缺失，用去甲基化试剂处理 ABO 基因表达阴性的白血病细胞，则 ABO 基因表达恢复，说明血液系统恶性肿瘤患者 ABH 抗原表达减弱或缺失与 ABO 基因启动子区域甲基化有关。此外，ABH 抗原的缺失与多种肿瘤如肺癌、胃癌、膀胱癌、卵巢癌、胰腺癌等肿瘤的预后相关。

ABO 等位基因缺失也会导致 A/B 抗原不表达。Gao 等对口腔鳞状细胞癌患者作了 ABO 基因遗传学和表观遗传学变化的系统研究,发现口腔鳞状细胞癌中 A/B 抗原不表达与 ABO 基因启动子高甲基化以及 ABO 等位基因杂合性丢失都有关系。膀胱移行细胞癌患者的 A 抗原表达同样也减弱消失,实验分析发现启动子高甲基化和等位基因杂合性丢失都是引起膀胱移行细胞癌 A 抗原表达减弱的原因。部分膀胱癌患者的 A 抗原表达缺失与 ABO 基因启动子区高甲基化状态明显相关,但与 A 等位基因杂合性丢失无关;还有部分人 A 抗原缺失与启动子区甲基化和等位基因缺失都相关。因此,肿瘤中常见的 A/B 抗原不表达可能是 ABO 启动子区甲基化或 ABO 等位基因杂合性丢失的结果。

## 6 其他调控机制

ABH 抗原的表达除受 ABO 基因 5'和 3'非翻译区和内含子中一些调控元件的调控之外,最近有研究发现其还受内源性反义 RNA、表观遗传学等机制调控。哺乳动物基因组内含有内源性反义转录本,可以通过翻译调节、基因组印记、RNA 干扰、RNA 编辑、甲基化、基因沉默等机制调节基因表达。ABO 基因中也存在内源性反义 RNA,并已被命名为 ABOAS,长度约 2.0kb、不含内含子,和 ABO 基因重叠的区域包括 ABO 基因的 5'-UTR、第 1 外显子及第 1 内含子的部分区域;在体外培养的细胞和正常组织中,ABOAS 表达和 ABO 基因表达是同步的,ABOAS 的转录从 ABO 基因 CpG 岛 3'末端开始,当用 DNA 结合蛋白抑制剂处理表达 ABO 基因的细胞后,ABO 启动子的活性受到抑制,ABO 基因转录水平降低,而 ABOAS 的转录水平反而增强;正义和反义转录本相互作用,一方表达增强,另一方表达就受到抑制。因而,内源性反义 RNA 链 ABOAS 的表达在 ABO 基因的表达调控中发挥重要作用。

Kominato 等发现在体外培养的红系细胞 K562 以及胃癌细胞系 KATOIII 中,利用组蛋白乙酰化酶抑制剂均可抑制 ABO 基因转录,使体外培养的细胞膜表面 ABH 抗原的表达量减少。说明组蛋白乙酰化状态的改变在 ABO 基因表达中发挥调控作用。

ABO 基因编码区、5'和 3'非翻译区和内含子的某些核苷酸序列变异对 ABO 基因产物的构象有很大的影响,进而影响基因产物的表达量与抗原活性。Cai 等所作的体外研究显示,B 等位基因突变 c.538C>T(p.R180C)虽然不影响糖基转移酶 B 的表达,但是令 H 至 B 抗原转化受损;计算机分析:在糖基转移酶和 H 物质结合口袋入口旁边的残基 Arg180 可以使糖链与高度柔性的 C-末端羧基连接,有助于 H 至 B 抗原的转化。Huang 等的 ABO 亚型研究鉴定了 10 个新弱 ABO 亚型等位基因,其中对 N-乙酰 D 半乳糖基转移酶(A 酶)基因中 p.L339P 突变的分子建模和分析显示该突变可能改变糖基转移酶 A 的局部构象并降低其稳定性;体外实验显示,与用野生型糖基转移酶 A 基因转染的细胞相比,用突变体 p.L339P 基因转染细胞的 A 抗原表达明显降低。CaiX 等还证实 ABO 外显子错义突变(c.28G>A 突变)并不是通过改变基因编码氨基酸序列来影响 B 抗原表达,而是通过降低 ABO 基因的 mRNA 剪接而使 B 抗原表达降低。

## 7 结语

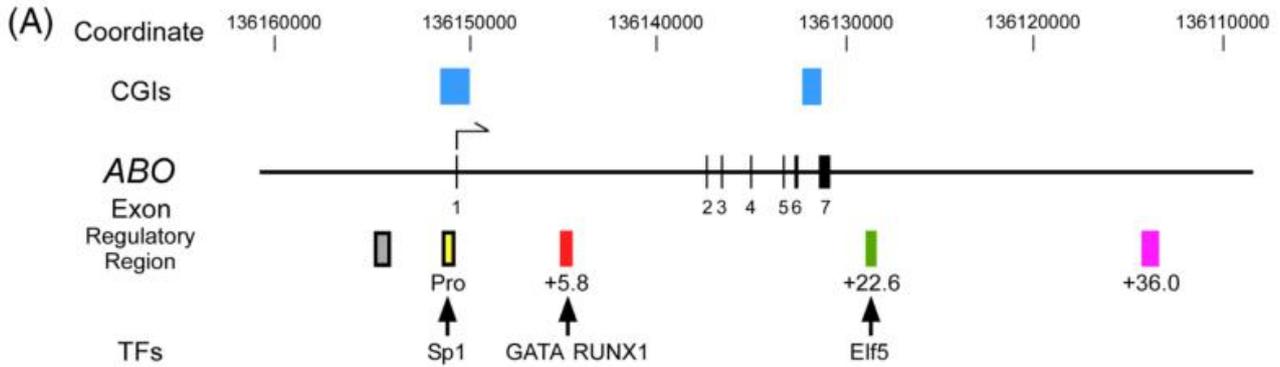
迄今为止人们对 ABO 基因转录表达调控的认识还很有限,ABO 基因在不同细胞之间不同表达状态的分子基础与肿瘤形成过程中 ABH 抗原表达改变的分子基础尚不完全清楚,对合成 ABH 抗原相关的其他糖基转移酶基因(如岩藻糖基转移酶基因)的转录调控依然一知半解。今后在此领域的研究需要着重探讨并弄清 ABO 糖基转移酶基因、相关糖基转移酶基因以及其他相关基因的协同表达机制,这将有助于阐明 ABH 抗原的表达调控。

## 2 《Human ABO gene transcriptional regulation》

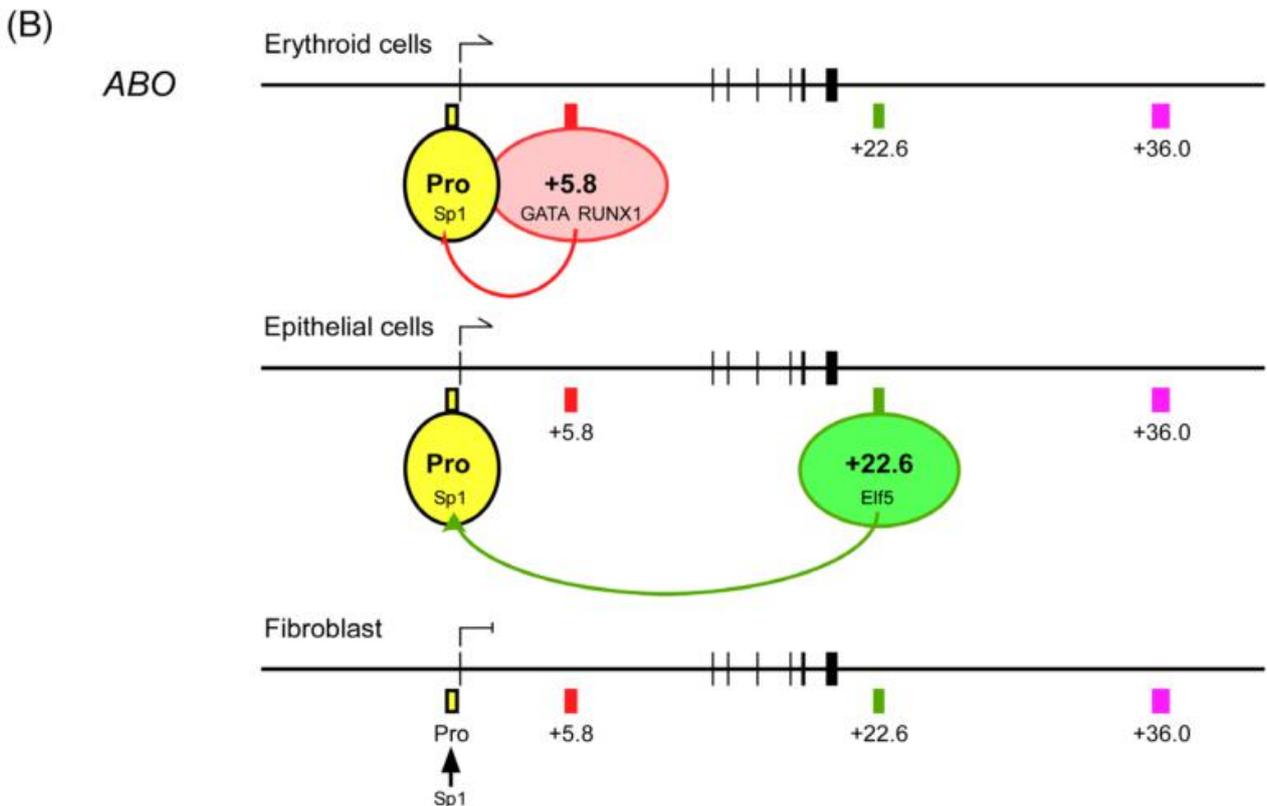
### 《人类 ABO 基因转录调控》

作者: Kominato Y, Sano R, Takahashi Y, Hayakawa A, Ogasawara K.

来源: Transfusion. 2020 Apr;60(4):860-869.

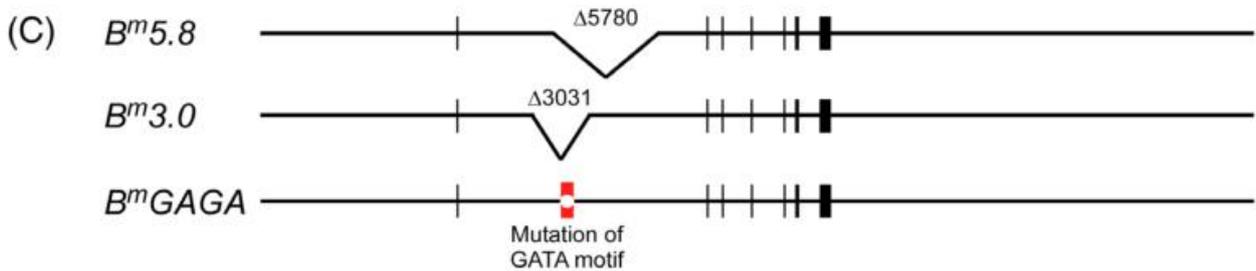


(A) 人类 ABO 基因从上游到下游的 50kb 基因组 DNA 图谱。ABO 基因外显子 1-7 在 hg19 和 CpG 岛 (CGIs) 坐标以垂直线表示。图下显示的是调控区域, 包括近端启动子 (Pro)、红细胞特异性调控元件或+5.8 kb 位点、上皮细胞特异性调控元件或+22.6 kb 位点, 以及 DHS 区域+36.0。此外, CCAAT 结合因子/NF- $\gamma$  增强子区域显示为灰色框。转录因子 (TFs) 与个别区域的结合也被指出。



(B) ABO 表达细胞特异性调控示意图。第一张图显示了推测的红细胞 ABO 表达中近端启动子与+5.8 kb 位

点的相互作用。第二张图显示了推测的上皮细胞 ABO 表达中近端启动子与+22.6 kb 位点的相互作用。第三张图显示，在不表达 GATA-1,2 和 Elf5 的成纤维细胞中，没有 ABO 表达，近端启动子与+5.8 kb 或+22.6 kb 位点均没有相互作用。



(C) *B<sup>m</sup>5.8*, *B<sup>m</sup>3.0*, *B<sup>m</sup>GAGA* 的模式。*B<sup>m</sup>5.8* 和 *B<sup>m</sup>3.0* 中的缺失分别用 v 形片段表示。在 *B<sup>m</sup>GAGA* 的+5.8 kb 位点上，GATA 基序的变异被标记为红框中的一个圆。

### 3 《RUNX1 mutation in a patient with myelodysplastic syndrome and decreased erythrocyte expression of blood group A antigen》

#### 《1 例骨髓增生异常综合征患者 RUNX1 突变，红细胞 A 血型抗原表达下降》

作者：Hayakawa A, Sano R, Takahashi Y, et al.

来源：Transfusion. 2020 Jan;60(1):184-196.

**摘要：**背景：在白血病患者中，红细胞血型 ABO 抗原的丢失是众所周知的，而这种 ABO 表达降低已被报道与 ABO 启动子的高甲基化密切相关。我们研究了 1 例骨髓增生异常综合征患者红细胞 A 抗原减少的潜在机制。研究设计与方法：通过外周血 PCR 和测序对 ABO 基因进行分析。对总骨髓细胞 cDNA 进行 RT-PCR。对骨髓细胞基因组 DNA 进行亚硫酸氢盐基因组测序。利用骨髓细胞基因组 DNA 的靶向测序板进行体细胞突变筛选，然后进行瞬时转染试验。结果：ABO 基因分析没有显示编码区、剪接位点或调控区有任何突变。RT-PCR 显示，当患者的红细胞未被抗 A 抗体凝集时，A 转录物减少，且与对照组相比，患者的可变剪接产物没有显著增加。红细胞 ABO 启动子的 DNA 甲基化不明显。靶向测序鉴定了 ASXL1、EZH2、RUNX1 和 WT1 的体细胞突变。瞬时转染 K562 细胞的实验表明，突变 RUNX1 的表达降低了 ABO 的表达。结论：由于 RUNX1 突变编码的是一个异常伸长的蛋白，该蛋白没有可以作为主要负性抑制剂的反式激活域，因此 RUNX1 的这种移码突变可能是导致红细胞 A 抗原丢失的一个候选遗传因素。

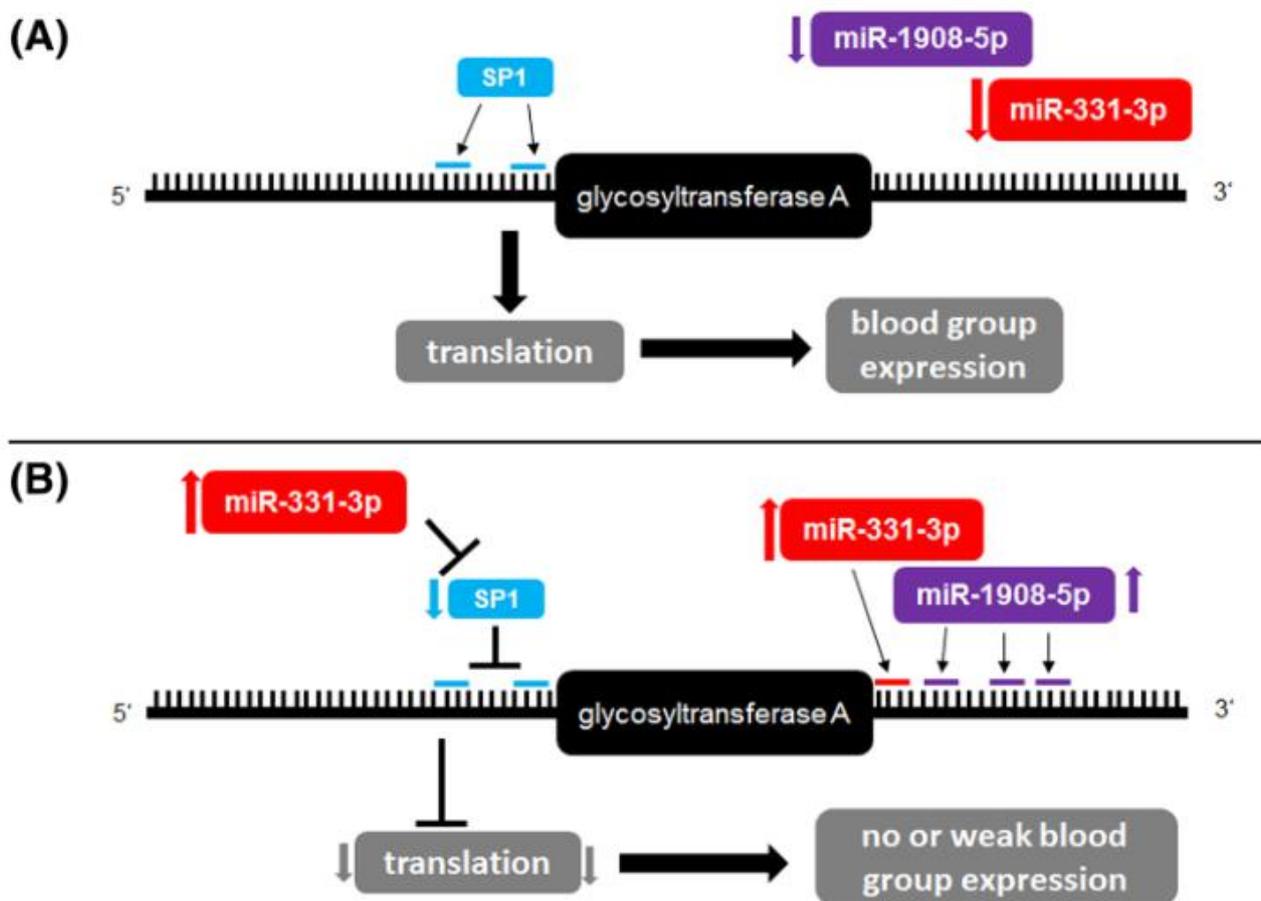
### 4 《Regulation of ABO blood group antigen expression by miR-331-3p and miR-1908-5p during hematopoietic stem cell differentiation》

#### 《miR-331-3p 和 miR-1908-5p 对造血干细胞分化过程中 ABO 血型抗原表达的调控》

作者：Kronstein-Wiedemann R, Nowakowska P, Milanov P, et al.

来源：Stem Cells. 2020 Jul 4.

**摘要：**ABO 血型系统是临床输血医学中最重要的因素，涉及到许多人类疾病。ABO 抗原并不局限于红细胞，而是广泛表达于多种人类细胞和组织中。到目前为止，许多 ABO 基因表达变异体等位基因已经被鉴定出来，并且在许多情况下可追溯到>250 种已报道的糖基转移酶基因突变之一。然而，在红细胞生成过程中，microRNAs (miRNAs)在调节血型抗原中的作用尚未被提及。在这里，我们发现 miR-331-3p 和 miR-1908-5p 直接靶向糖基转移酶 A 和 B 的 mRNA。miR-331-3p 和 miR-1908-5p 表达水平与血型 A 抗原水平呈负相关。此外，我们发现造血干细胞中这些 miRNAs 的过表达导致每个红细胞中 A 血型抗原的数量显著减少。miR-331-3p 同时靶向转录因子 SP1 进一步增强了这些作用。该靶向使 SP1 无法与 ABO 基因启动子结合，导致 A 血型抗原表达进一步下调高达 70%。综上所述，这些 miRNAs 的表达变化可能解释了罕见的糖基转移酶编码区的遗传变异无法解释的弱 A/B 表型。这些结果也解释了 ABH 抗原在癌变过程中消失的原因，并为 ABO 不匹配器官移植提供了新的治疗靶点。



本研究提出的机理图。

A, 在纯合血型 A 基因型的供体中，miR-331-3p 和 miR-1908-5p 被抑制，而转录因子 SP1 可与 ABO 基因启动子序列结合，导致糖基转移酶 A 和血型 A 抗原正常表达。

B, 过表达 miR-331-3p 和 miR-1908-5p 抑制糖基转移酶 A。此外，miR-331-3p 过表达抑制转录因子 SP1 的表达，从而下调 ABO 基因启动子活性，导致基因进一步抑制。

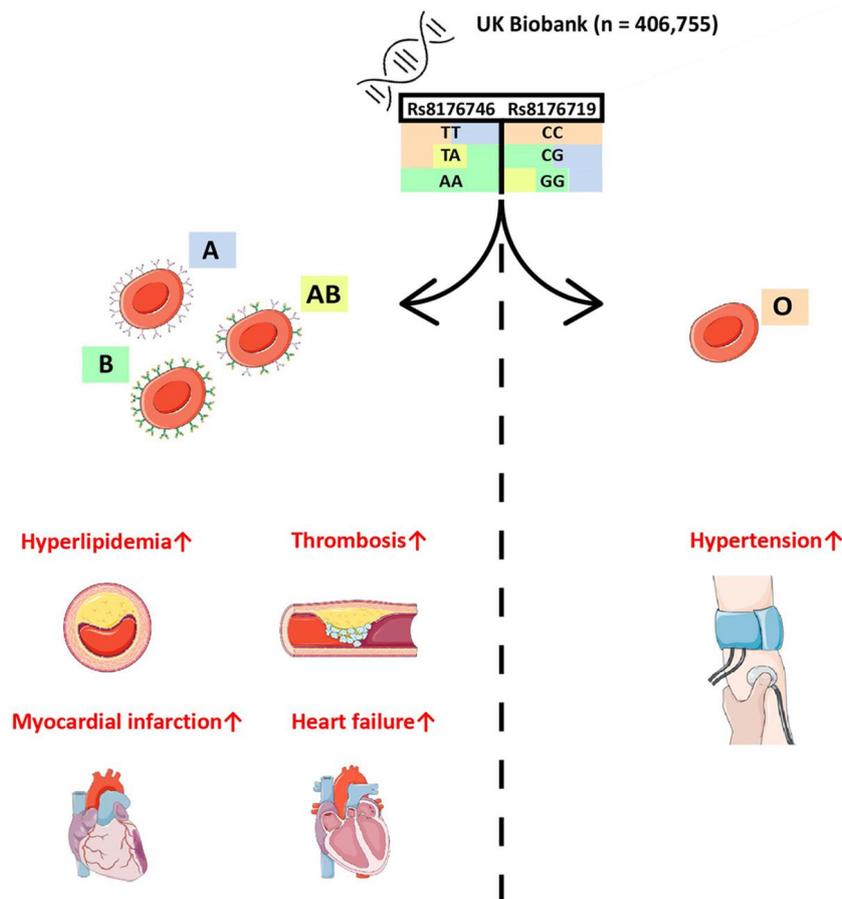
## 5 《Genetically Determined ABO Blood Group and its Associations With Health and Disease》

### 《基因决定的 ABO 血型及其与健康 and 疾病的关系》

作者: Groot HE, Villegas Sierra LE, Said MA, et al.

来源: Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2020 Mar;40(3):830-838.

**摘要:** 目的: 利用 ABO 血型系统的遗传决定因素来确定与 ABO 血型系统相关的表型谱。方法和结果: 在英国生物库队列中, 我们评估了 41 个健康和疾病结果的风险, 以及 36 个与 ABO 血型系统相关的线性特征。本研究共纳入 406 755 名无亲缘关系的个体。根据之前建立的 ABO 基因单核苷酸多态性 rs8176746、rs8176719 的等位基因组合, 确定 A、B、O 血型。AB 型因样本量相对较小而被排除。总体而言, 187387(46%)为男性, 平均(SD)年龄为 57±8.1 岁, 中位总暴露量为 64 人年(四分位数范围, 57 - 70)。在 406 755 人中, 有 182 621 人(44.9%)是 O 血型, 182 786 人(44.9%)是 A 血型, 41 348 人(10.2%)是 B 血型。ABO 血型与 11 个健康和疾病结果相关( $P < 2.19 \times 10^{-4}$ )。ABO 血型主要与心血管事件相关。与 O 型血的个体相比, A 型血和 B 型血的血栓栓塞事件发生率增加(1.56 [95% CI, 1.43-1.69]), 高血压发生率降低(0.94 [95% CI, 0.92-0.97])。结论: ABO 血型系统与健康老化和疾病发展的几个参数有关。对 ABO 血型的了解可能有助于采取更个性化的方法来维持健康和预防疾病。



## 6 《Relationship between the ABO Blood Group and the COVID-19 Susceptibility》

### 《ABO 血型与 COVID-19 易感性的关系》

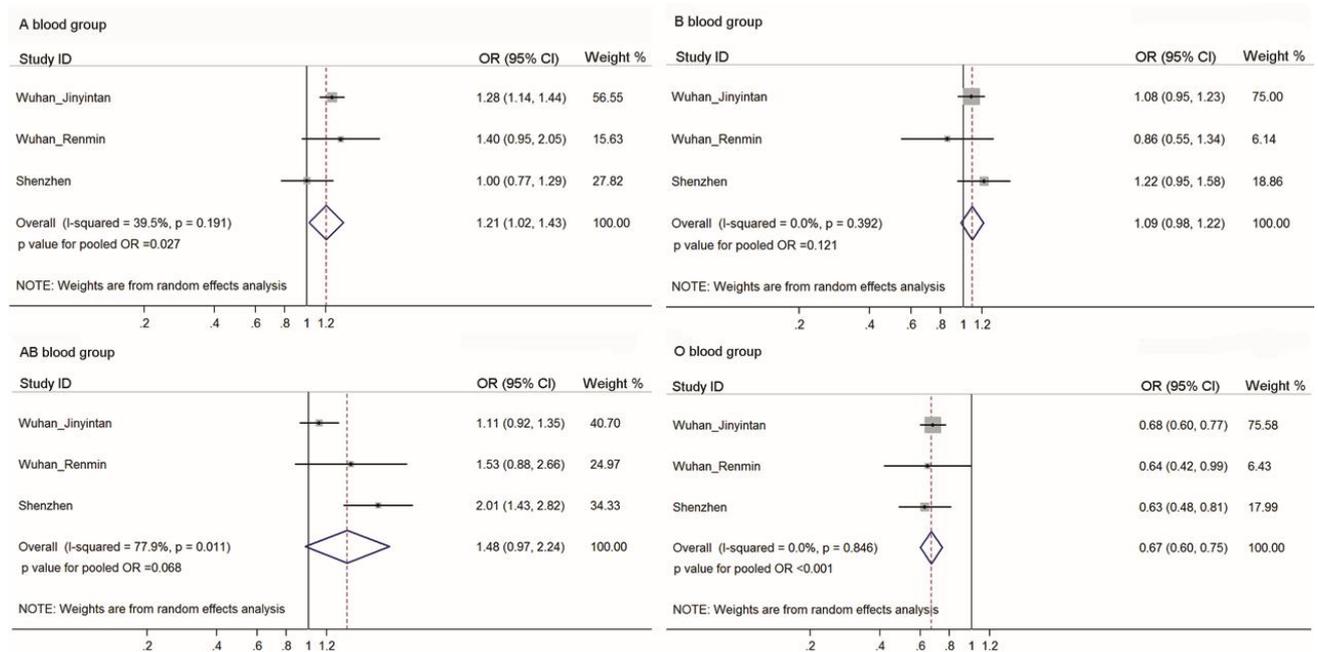
作者: Zhao J, Yang Y, Huang H, et al.

来源: Clin Infect Dis. 2020 Aug 4:ciaa1150.

**摘要:** 为探索 ABO 血型和 COVID-19 易感性之间的关系, 我们比较 2173 例 COVID-19 患者和当地对照人群的 ABO 血型分布, 发现 A 血型与感染风险增加有关, 而 O 血型与感染风险降低有关。

**样本来源:** COVID-19 患者共 2173 例, 分别来自 3 家医院: 武汉市金银潭医院 1775 例、武汉大学人民医院 113 例、深圳市第三人民医院 285 例。对照 (非 COVID-19 患者): 武汉市 3694 例, 深圳市 23386 例。

**检测方法:** 仅提到“ABO 分型”, 具体方法未知。



三家医院 ABO 血型对 COVID-19 风险的荟萃分析。x 轴表示比值比的点估计及其对应的 95% 置信区间; y 轴表示研究患者的来源。

## 7 《Blood group alters platelet binding kinetics to von Willebrand factor and consequently platelet function》

### 《血型改变血小板与血管性血友病因子的结合动力学, 从而改变血小板功能》

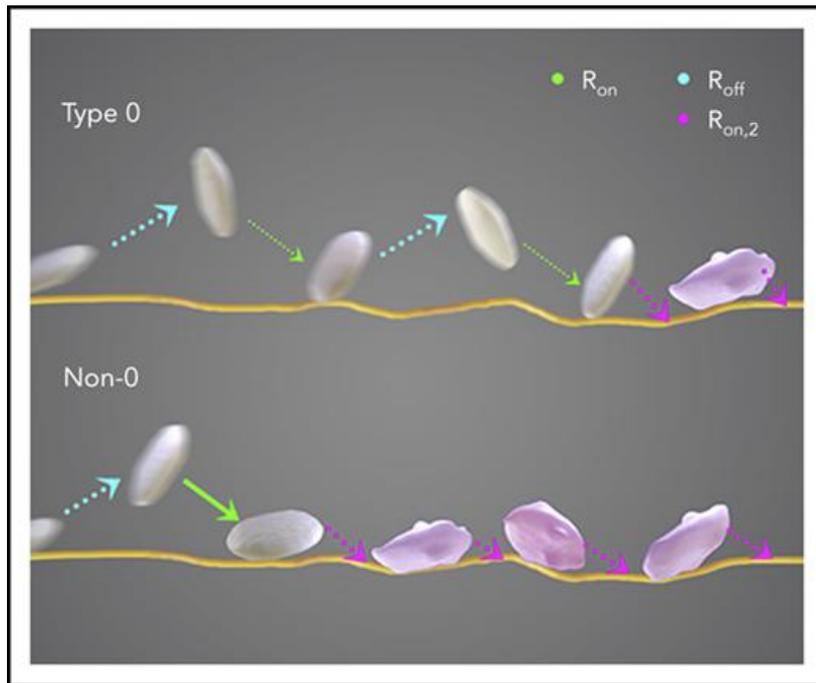
作者: Dunne E, Qi QM, Shaqfeh ES, et al.

来源: Blood. 2019 Mar 21;133(12):1371-1377.

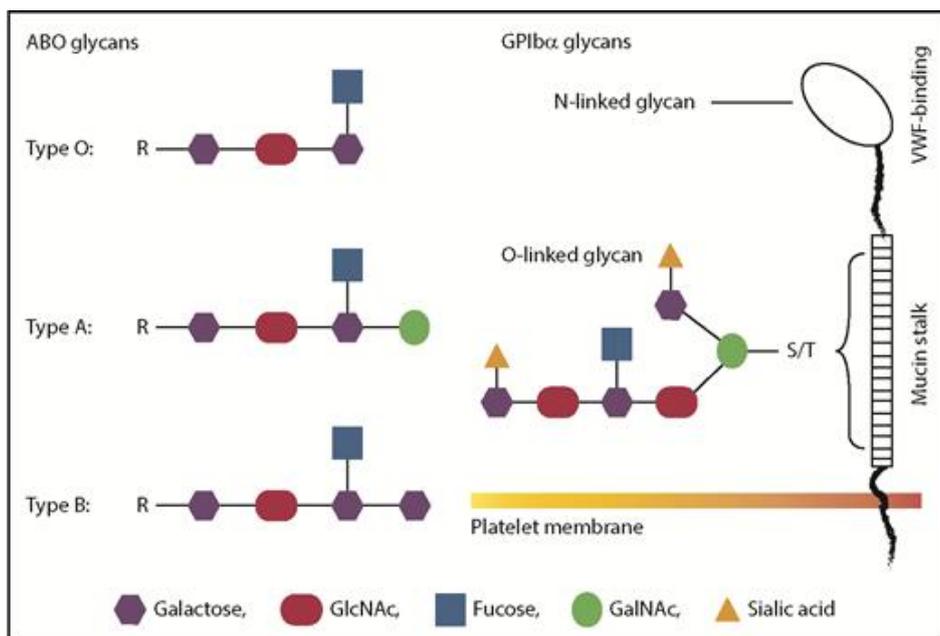
**摘要:** O 型血与较低的心肌梗死风险有关。血小板在心肌梗死中起关键作用。血小板蛋白上的血型抗原表达是否会改变血小板功能尚不清楚;我们假设, O 型血献血者和非 O 型血献血者的血小板功能会有所不同。

为了解释这一假设，我们在动脉切变时将健康 O 型献血者 (n = 33) 和非 O 型献血者 (n = 54) 的血液灌注在混合血浆来源的血管性血友病因子 (VWF) 蛋白和纯化的血型特异性 VWF 上，并测量血小板易位动力学。我们首次证明了 O 型血小板在与 VWF 形成稳定键之前以更快的速度移动得更远。为了进一步描述这些发现，我们使用了一种新的血小板相互作用分析模型。建模显示，O 型血小板 GPIb/VWF 结合率的动力学显著低于非 O 型血小板。我们的结果表明，O 型供体的血小板在动脉切变时与 VWF 的相互作用比非 O 型血小板要少。我们的研究结果提示了 O 型血降低心肌梗死风险的潜在机制。

**要点：** (1) 与非 O 型血小板相比，O 型血小板在 VWF 上以更快的速度转移到更远的地方。(2) O 型血小板与 VWF 的结合动力学比非 O 型血小板低 40%。



摘要图。Ron=血小板粘附速率；Roff=血小板脱离速率；Ron,2=血小板稳定粘附速率



ABO 和 GPIb 聚糖的示意图比较。GPIb  $\alpha$  上的聚糖最有可能被末端唾液酸严重修饰，而血小板 ABO 不太可能被唾液化。血小板上 ABO 表位有 2 个可能的位置：GPIb  $\alpha$  和膜糖脂的富黏蛋白区。两者都不在 VWF 结合区，提示 ABO 间接调控 GPIb-VWF 的相互作用。ABO 在血小板上的两个潜在位置也可能导致不同的调节流动血液中 GPIb-VWF 相互作用的机制。【此图源于本文的评论文章：Dong JF. ABO on platelets goes beyond transfusion. Blood. 2019 Mar 21;133(12):1274-1275.】

## 8《ABO zygosity, but not secretor or Fc receptor status, is a significant risk factor for IVIG-associated hemolysis》

《ABO 杂合度，而非分泌体或 Fc 受体状态，是 IVIG 相关溶血的重要危险因素》

作者：Branch DR, Hellberg Å, Bruggeman CW, et al.

来源：Blood. 2018 Feb 15;131(7):830-835.

虽然静脉注射免疫球蛋白（IVIG）是常规有效并且通常反应良性，但高剂量（2 g/kg）IVIG 治疗可导致明显的红细胞溶血，在某些情况下严重危及生命。溶血发生的机制尚不完全清楚，但似乎涉及产品内的同族凝集素（抗 A、抗 B 和抗 A, B）与受体红细胞上的同源抗原的结合，这些调理后的红细胞易受抗体依赖的细胞介导的吞噬作用。这一过程通过使用修饰的单核细胞单层分析在体外得以复制，这可能是为什么几乎所有确诊 IVIG 相关溶血的患者都是非 O 血型接受高剂量治疗的原因。然而，这个高危亚群中只有一部分会溶血，提示可能还有其他因素影响易感性。

本研究检测 IVIG 相关溶血的三个可能危险因素：ABO 杂合度、ABH 分泌物状态和 Fc $\gamma$  受体（Fc $\gamma$ R）多态性。具体来说，由于溶血程度与抗原密度之间通常存在相关性，可以想见，基因为 AA、BB 和 AB 的个体比 AO 和 BO 的个体更容易发生 IVIG 相关溶血。相反，因为有证据表明，IVIG 介导的溶血的发生率随同族凝集素效价变化，所以非 O 型个体血浆中和物质的存在可能干扰红细胞结合同族凝集素（例如，有功能性 FUT2 的所谓分泌者中的可溶性 A 和 B 物质），从而防止溶血。最后，因为 IVIG 相关溶血可能由红细胞结合 IgG 类同族凝集素的 Fc $\gamma$  部分与单核细胞和巨噬细胞表达的 Fc $\gamma$ Rs 的结合触发，这些受体的数量（由 Fc $\gamma$ R 基因拷贝数定义）和相对活动性（由特定的 Fc $\gamma$ R 基因多态性定义）可能调节对 IVIG 介导的溶血的易感性。采集共计 42 名接受高剂量 IVIG（根据瘦体质量调整  $\geq 2$  g/kg）的非 O 型患者样本进行基因检测。

42 名患者来自 3 个队列：4 名患者来自一个最初的前瞻性血液警戒试点（患者 1-4）；31 名患者来自一项规模更大的前瞻性多中心观察研究（ClinicalTrials.gov; NCT02259478）（n = 31/78 例；患者 5-36）；6 名患者（患者 37-42）来自一个被动血液警戒管辖区。溶血的定义是基于加拿大 IVIG 溶血药物警戒组指南。DNA 分离、ABO 基因分型以及分泌者 FUT2 基因分型在 Lund（瑞典）进行。Fc $\gamma$  受体拷贝数和多态性的基因分型在 Amsterdam（荷兰）进行。

在 42 例被研究的患者中，杂合度分析显示 O 等位基因有减轻 IVIG 相关溶血的趋势。AA（n = 1; A1/A2）、BB（n = 4）和 A1B（n = 6）与 AO（n = 22）和 BO（n = 9）相比，AO 和 BO 组避免溶血的 OR 为 3.7（95% CI: 0.8-16.7）；在有溶血的 21 例患者中有 13 例（62%）是 AO 或 BO，而在无溶血的 21 例患者中有 18 例（86%）（P = .080）（图 1A-B）。反过来，与 A 型（基因型 AO 或 AA；9/23=39%；P = .0078）或 B 型（基

因型 BO 或 BB; 6/13=46%; P = .024) 相比, A1B 型 (6/6=100%) 的血型特异的溶血发生率最高。A 型 (基因型 AA 和 AO) 接受者 (n = 23) 中, 0/15 (0%) 溶血患者有 A2 等位基因, 4/14 (29%) 非溶血患者有 A2 等位基因 (P = .026), 这与 A2 型比 A1 型抗原密度低一致。考虑到研究样本量小, 不能准确确定 A1B 表型 (基因型 A1B) 患者是否比 A1O 或 A1A2 基因型患者 (我们没有 A1A1 患者) 溶血更严重 (仅与溶血患者比较时 P = .439)。一个有趣的发现是, 直接抗球蛋白试验阳性 (弱-2+) 和放散液阳性的 11 个患者没有溶血的其他证据, 表明那些血清学结果相似的溶血患者可能涉及活化单核吞噬细胞系统等其他因素。

分泌状态 (由是否存在功能性 FUT2 基因产物定义) 与溶血无关, 31 例分泌者中有 17 例 (55%) 发生溶血, 11 例非分泌者中有 4 例 (36%) 发生溶血 (P = .29) (图 1C)。不同分泌状态的溶血严重程度似乎也无差异, 4/17 (24%) 分泌者和 1/4 (25%) 非分泌者发生 4 级溶血 (P = .95), 8/17 (47%) 分泌者和 2/4 (50%) 非分泌者发生代偿性或 1 级溶血 (P = .91) (图 1D)。因此, 我们得出结论, 可溶性 A/B 抗原的存在不能防止溶血。

FCGR2/3 位点的相关单核苷酸多态性 (SNPs) 和拷贝数变异 (CNV) 已经在之前详细描述过。由于 FCGR2/3 位点的高序列同源性, 导致 FCGR2C、FCGR3A、FCGR3B 基因容易重复或缺失。在所有 42 例个体中, 分别测定了低亲和力 Fc $\gamma$ Rs 的 CNV, 以及这些基因的 SNPs (即 FCGR2A H131R、FCGR2B I232T、FCGR3A V158F、FCGR3B NA1NA2、FCGR3B SH)。“溶血”组和“非溶血”组 FCGR2C 的不同 SNPs 和开放阅读框 (ORF) 的频率相同 (P = .49-1.00)。因此, 低亲和力 Fc $\gamma$ Rs (由 FCGR2/3 位点定义) 的 CNV 和多态性与 IVIG 相关的溶血没有联系。为了探讨相对 IgG 受体亲和力是否可能调节溶血的相对严重程度, 我们特别比较了 FCGR2A 131H 纯合子和杂合子的溶血等级; 两组间的平均溶血等级没有差异 (结果未显示)。

综上, 我们可以得出关于大剂量 IVIG 相关溶血机制的以下结论: 表型 A1B (基因型 A1B) 的患者患 IVIG 相关溶血风险高, O 等位基因杂合子以及 A2 基因型的患者显示保护作用 (遗憾的是, 我们队列中没有 A1A1 纯合患者, 所以不能确定他们是否和 A1B 患者一样高风险)。IVIG 相关溶血与分泌/非分泌状态无关。IVIG 相关溶血不是 Fc $\gamma$ R 表达的遗传决定因素, 或已知的可能影响单核巨噬细胞吞噬抗 A /抗 B 调理红细胞能力的定性多态性的结果。

虽然我们的研究结果表明, 最小化 IVIG 相关溶血风险的临床方法可能是避免对血型 A1B 或已知纯合 AA 或 BB 的个体进行这种治疗, 但大批量基因分型仍是不切实际的, 且还需要在相关疾病中建立 IVIG 替代品的疗效证据。但如果表型为 AB 血型的患者接受大剂量 IVIG 治疗, 应谨慎密切监测这些患者的溶血情况。

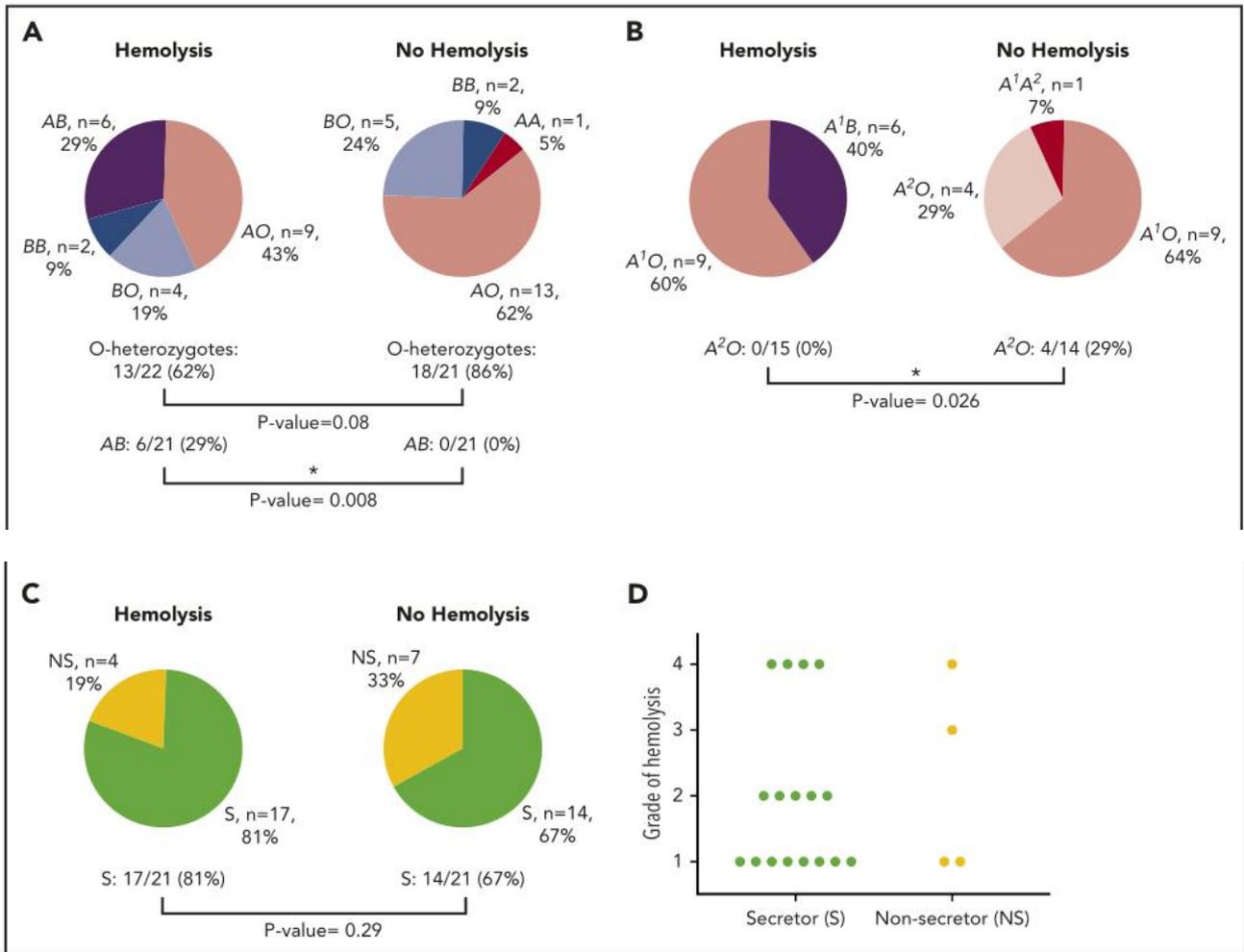


图 1 ABO 和 FUT2 (分泌者) 基因分型结果。(A) IVIG 治疗后溶血患者与未溶血患者的 ABO 结果。AB 为 A1B 基因型。(B) A 血型 IVIG 治疗后溶血患者与未溶血患者的基因分型结果。(C) IVIG 治疗后溶血患者与未溶血患者的分泌状态的 FUT2 基因分型检测。(D) 分泌者与非分泌者的 IVIG 治疗后溶血的严重程度。由于代偿性溶血和 1 级溶血都是轻度溶血, 所以被归为一类。P 值由 Fisher 精确检验确定。星号表示显著差异。S, 分泌者; NS, 非分泌者。

## 9 《Clinical outcomes after ABO-incompatible renal transplantation: a systematic review and meta-analysis》

### 《ABO 血型不合肾移植术后的临床结果: 一项系统综述和荟萃分析》

作者: Scurt FG, Ewert L, Mertens PR, et al.

来源: Lancet. 2019 May 18;393(10185):2059-2072.

**摘要:** 背景: ABO 血型不合的肾移植(ABOi-rTx)越来越多地用于解决器官短缺问题。与 ABO 相合肾移植(ABOc-rTx)相比, 其非劣效性的证据需要在早期和晚期进行分析。我们的目的是调查 ABOi-rTx 和 ABOc-rTx 术后结果的差异。方法: 通过搜索 Cochrane 临床对照试验中心注册数据库(CENTRAL)、Embase Ovid、MEDLINE

Ovid 和 PubMed, 我们对截至 2017 年 12 月 31 日发表的、报告了 ABOi-rTx 术后结果数据( $\geq 1$  年随访)的观察性研究进行了系统回顾和荟萃分析, 纳入了 1 个 ABO 相合的对照组。我们评估了 ABOi-rTx 受者的试验, 是否纳入了 ABO 相合的对照组, 以及是否有至少移植物或受者存活 1 年或更长时间的随访数据。排除标准包括病例报告、社论、综述和信件、动物研究、会议论文、无法提取数据的研究、非肾实体器官和骨髓移植研究以及死亡供体 ABOc-rTx。数据从已发表的报告中提取。主要终点是移植后 1 年、3 年、5 年和 8 年以上的全因死亡率和移植物存活率。在荟萃分析中, 如果  $I^2$  值为 0, 我们使用固定效应模型, 如果  $I^2$  大于 0, 我们使用固定效应和随机效应模型。该研究在 PROSPERO 注册, 编号 CRD42018094550。发现: 筛选了 1264 项研究, 确定了 40 项研究, 包括 49 个患者组。65 063 例患者符合分析条件, 其中 7098 例接受了 ABOi-rTx。与 ABOc-rTx 相比, ABOi-rTx 与显著较高的移植后 1 年(OR 2.17 [95% CI 1.63-2.90],  $p < 0.0001$ ;  $I^2 = 37\%$ )、3 年(OR 1.89 [1.46 - 2.45],  $p < 0.0001$ ;  $I^2 = 29\%$ )和 5 年(OR 1.47 [1.08 - 2.00],  $p = 0.010$ ;  $I^2 = 68\%$ )死亡率相关。仅在 1 年(OR 2.52 [1.80 - 3.54],  $p < 0.0001$ ;  $I^2 = 61\%$ )和 3 年(OR 1.59 [1.15 - 2.18],  $p = 0.0040$ ;  $I^2 = 58\%$ )时 ABOi-rTx 的死亡删失移植物存活率低于 ABOc-rTx。5 年后移植物丢失率与 ABOc-rTx 相同, 8 年后患者生存率相同。没有发现发表偏倚, 结果对试验序贯分析是稳健的, 直到移植后 5 年; 此后, 数据变得无用或不确定。解释: 尽管 ABOi-rTx 手术脱敏方案和优化方面取得了进展, 但在移植后的前 3 年内, 死亡率和移植肾丢失率均高于 ABOc-rTx。只有 5 年后的长期结果才有相同的生存率和器官功能。对感染、器官排斥和出血风险增加的认识可以改善对患者的护理, 并促进对配对肾脏交换方案的努力。

## 10 《Daratumumab for Delayed Red-Cell Engraftment after Allogeneic Transplantation》

### 《达雷木单抗治疗异基因移植后的红细胞植入延迟》

作者: Chapuy CI, Kaufman RM, Alyea EP, Connors JM.

来源: N Engl J Med. 2018 Nov 8;379(19):1846-1850.

**摘要:** 达雷木单抗 (Daratumumab) 是一种靶向 CD38 的人 IgG1  $\kappa$  单克隆抗体, 用于治疗多发性骨髓瘤。我们下面描述一个病例, 在这个病例中, 使用达雷木单抗成功治疗了 ABO 血型不合异基因干细胞移植后发生的难治性纯红细胞再生障碍。患者是一名患骨髓增生异常综合征的 72 岁男性, 他接受了主要 ABO 血型不合 (供者血型为 A 型, 受者血型为 O 型) 且 HLA 匹配的无血缘供者的移植。患者有持续的循环抗 A 抗体, 并且在移植后 200 日, 红细胞未恢复。标准治疗无效。在开始达雷木单抗治疗后 1 周内, 患者不再需要输血。

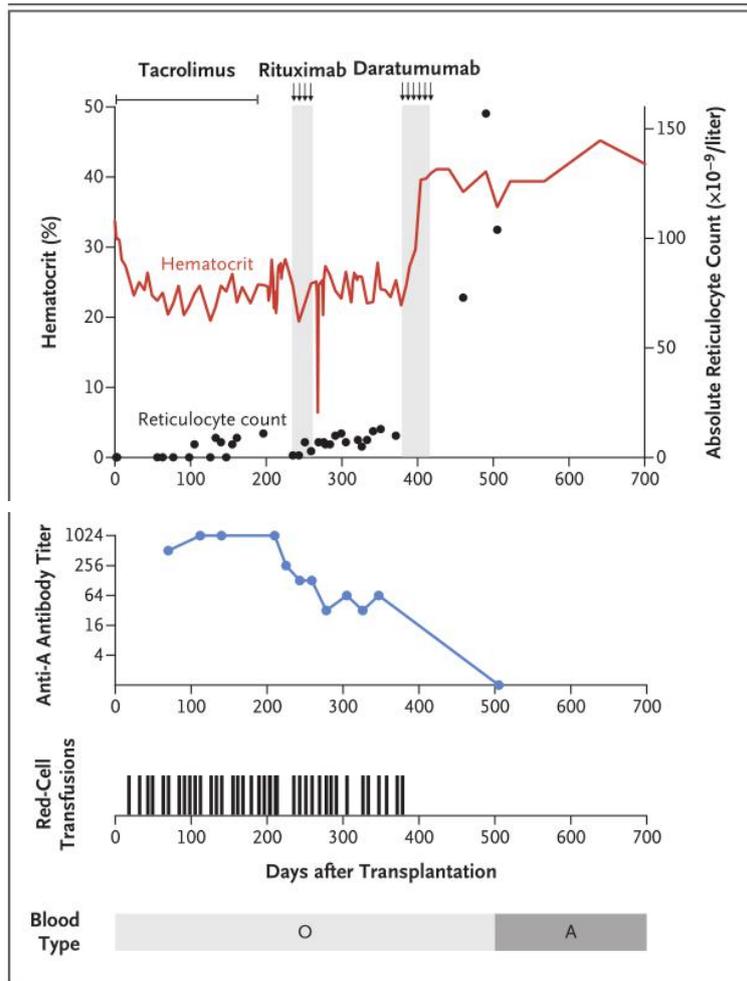


图 1. 在接受主要 ABO 血型不合的供者干细胞移植的受者中，使用达雷木单抗治疗纯红细胞再生障碍的结果。图中显示的是首先使用利妥昔单抗治疗，然后使用达雷木单抗（阴影）治疗之前和之后的血细胞比容、网织红细胞计数、抗 A 抗体滴度、对红细胞输血的需要量和血型。利妥昔单抗治疗后血细胞比容的变化反映了红细胞输血的持续进行；在开始达雷木单抗治疗之前即刻接受了 1 次输血。如箭形所示，患者接受了 4 剂利妥昔单抗治疗和 6 剂达雷木单抗治疗。

## 11 《Rapid and Reliable One-Step ABO Genotyping Using Direct Real-Time Allele-Specific PCR and Melting Curve Analysis Without DNA Preparation》

《快速可靠的一步 ABO 基因分型，直接实时等位基因特异性 PCR 和熔解曲线分析，无需 DNA 制备》

作者：Park JH, Han JH, Park G.

来源：Indian J Hematol Blood Transfus. 2019 Jul;35(3):531-537.

摘要：ABO 基因分型是一种重要的分子诊断技术，在医学上用于输血和移植，在法医学上用于人体鉴定。

由于 ABO 基因分型费时费力，不能首先用基因分型来解决血库 ABO 血清学差异。为了快速一步 ABO 基因分型，我们开发了无需 DNA 制备的直接、实时、等位基因特异性聚合酶链反应(PCR)和熔解曲线分析(DRAM 分析)。在 DRAM 分析中，我们使用特殊的 PCR 缓冲液进行直接 PCR，快速的红细胞裂解缓冲液，以不需要 DNA 制备的白细胞为模板，用等位基因特异性引物鉴别 3 个 ABO 等位基因(261G/del, 796C/A, 803G/C)，熔解曲线分析作为检测方法。96 例静脉血标本的 DRAM 分析、血清学分型、PCR-RFLP 和 PCR-直接测序的 ABO 基因分型结果 100%一致。我们能够将手工操作的步骤减少到 3 个，操作时间减少到 12 分钟，而传统的纯化 DNA 等位基因特异性 PCR 琼脂糖凝胶电泳的 ABO 基因分型方法则需要 7 个步骤和大约 40 分钟。我们建立并验证了在封闭系统中快速可靠的一步 ABO 基因分型 DRAM 方法。使用适当数量的等位基因特异性引物进行 DRAM 分析，有助于解决 ABO 血型差异，在临床实验室和血库中具有重要价值。

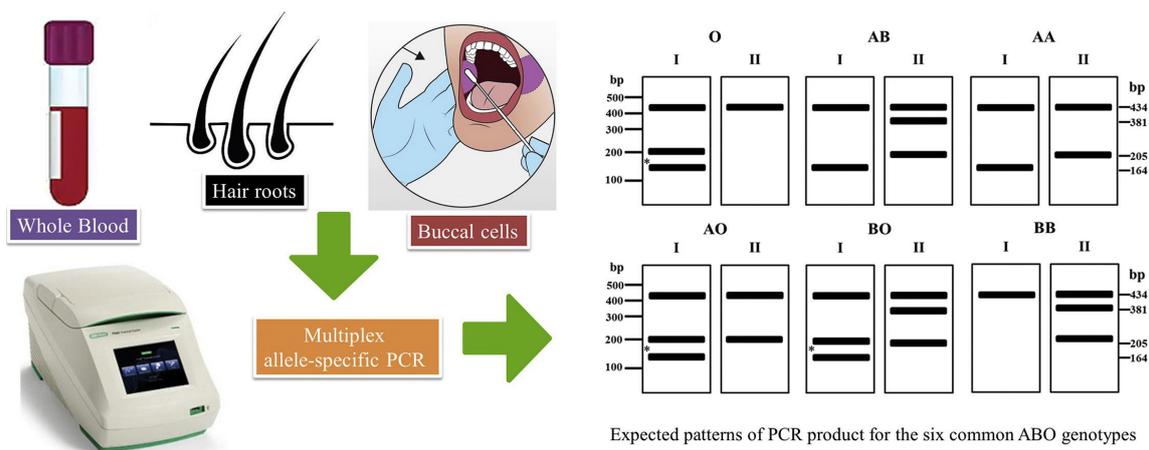
## 12 《Direct multiplex allele-specific PCR amplification for ABO genotyping from whole blood, hair root and buccal cell》

### 《全血、发根、口腔细胞 ABO 基因分型直接多重等位基因特异性 PCR 扩增》

作者：Sirinart Chomean, Maysinee Prasarnjitt, et al.

来源：Gene Reports, Volume 17, 2019, 100510, ISSN 2452-0144.

**摘要：**背景：ABO 基因分型在输血、器官移植和法医等方面的应用越来越广泛。传统的需要 DNA 提取和纯化的方法费时费力，且限制了痕量样品的检测。方法：本研究采用多重等位基因特异性聚合酶链反应(AS-PCR)方法在两试管反应中鉴定 ABO 血型的六种主要基因型。对 30 名志愿者的全血、口腔细胞和发根标本进行了检测。结果：所有的基因分型结果都被区分出来并与血清学结果一致。这种改良的 AS-PCR 方法可以直接使用血液和非侵入性样本，包括使用口腔细胞和发根进行 ABO 基因分型。结论：该技术特异、灵敏、快速、经济，对输血医学和法医鉴定具有一定的应用价值。



## 13 《Identification of a novel A2 allele through nt543 substitution》

### 《nt543 替换的新 A2 等位基因的鉴定》

作者: Wen YH, Chiueh TS, Wang WT, et al.

来源: J Formos Med Assoc. 2020 Apr;119(4):845-849.

**摘要:** 背景: ABO 血型系统有很多亚型。在 A 型中, A1 表型和 A2 表型更为常见, 而 A2 是由于 A1 等位基因(ABO\*A1.01)中的缺失或替换而引起的。方法: 根据标准的 ABO 血清学检测, 确定该受试者为 A2 表型。直接测序和 ABO 基因克隆分析等位基因。结果: 受试者有一个 A1v 等位基因(ABO\*A1.02)和一个 O 等位基因。各等位基因克隆的单倍型测序分析显示, 等位基因 1 为 A1v (ABO\*A1.02)等位基因, nt543 变异(543 G > C); 等位基因 2 为 O1v 等位基因, ABO\*O.01.02, nt261 缺失, nt220 变异。结论: 现有 A1v 等位基因(ABO\*A1.02)的 543 G > C 核苷酸替换与 Ax 等位基因(ABO\*AW.33) (543 G > T)的序列变异位点相同, 543 G > C 和 543 G > T 核苷酸替换均编码相同的色氨酸到半胱氨酸的氨基酸变化。已提出等位基因增强等机制来解释这种有争议的表型-基因型关系。但在目前的情况下, 还没有 B 等位基因能将 Ax 的表达增强到 A2 的预期水平, 因此可能存在另一种新的潜在机制有待研究。

**测序方法:** Big Dye Terminator Cycle Sequencing kit, ABI PRISM 377 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, Foster City, CA).

**Table 3** Comparison of nucleotide of the ABO alleles identified by DNA sequencing.

	Exon3		Exon4		Exon5	Exon6		Exon7										
	106	188	189	220	261	297	467	526	543	646	657	681	703	771	796	803	829	930
A1.01	G	G	C	C	G	A	C	C	G	T	C	G	G	C	C	G	G	G
A1.02							T											
B.01					G	G		G			T		A		A	C		A
O.01.01					del													
O.01.02	T	A	T	T	del	G			A		A		T				A	
Allele 1	G	G	C	C	G	A	T	C	C	T	C	G	G	C	C	G	G	G
Allele 2	T	A	T	T	del	G	C	C	G	A	C	A	G	T	C	G	A	G

The results of DNA sequencing for allele 1 and allele 2.  
There was a nt261 deletion in allele 2 that demonstrated allele 2 is O<sup>1v</sup> allele and had C > T substitution variation at nt220. There was nt467C > T in allele 1 that demonstrated allele 1 is A<sup>1v</sup> allele and had G > C substitution variation at nt543.

## 14 《Identification of a novel A allele with a c.731T>C mutation on the ABO\*A1.02 allele》

### 《ABO\*A1.02 等位基因上 c.731T>C 突变的新 A 等位基因的鉴定》

作者: Hong X, Ying Y, Ma K, et al.

来源: Transfusion. 2020 Jul 3.

**样本来源:** 先证者是一位中国无偿献血者。之后在 470 名中国汉族个体中检测 c.731T>C 突变。

**ABO 表型分型结果:**

Forward typing test					Reverse typing test			Phenotype	Genotype
Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-A1	Anti-H	Ac	Bc	Oc		
1+	0	2+	0	4+	0	3+	0	Aw	ABO*AW(c.731T>C), ABO*O.01.02

### ABO 全编码区域核苷酸序列分析结果:

发现 12 个杂合核苷酸: c.106G/T, c.188G/A, c.189C/T, c.220C/T, c.261del/G, c.297A/G, c.467C/T, c.646T/A, c.681G/A, c.731T/C, c.771C/T 和 c.829G/A。c.467C>T 是 ABO\*A1.02 独有的, c.106G>T, c.188G>A, c.189C>T, c.220C>T, c.261delG, c.297A>G, c.646 T>A, c.681G>A, c.771C>T 和 c.829G>A 对应于 ABO\*O.01.02。然而, c.731T>C 突变未在已知 ABO 等位基因中找到。

### ABO 等位基因特异性引物测序结果:

为区分 c.731T>C 突变是位于 ABO\*A1.02 还是 ABO\*O.01.02, 采用了基于 c.261del/G 多态性的 ABO\*A 和 ABO\*O 等位基因特异引物测序方法。随后在先证者体内发现 ABO\*O.01.02 和一个新的 A 等位基因。

### 讨论:

与 ABO\*A1.02 相比, 新 A 等位基因的序列在 731 位上有一个 T 到 C 的核苷酸取代(c.731T>C), 导致 244 密码子上的氨基酸由苯丙氨酸变为丝氨酸(p.Phe244Ser)。新 A 等位基因在 GenBank 核苷酸序列数据库中的登录号为 KY575975。dbSNP(rs1263211047)中存在 c.731T>C 突变, 频率为 0.000016, 我们在 470 名中国汉族个体中未发现该突变。c.731T>C 对  $\alpha$  1,3-N-乙酰基-D-半乳糖氨基转移酶的影响, 本报告未进行体外研究, 有待今后进一步研究。

## 15 《Two novel A alleles with c.322C>T or c.410C>T mutations on the ABO\*A1.02 allele were identified in the Chinese individuals》

《在中国人群发现了 ABO\*A1.02 等位基因上 c.322C>T 或 c.410C>T 突变的 2 个新 A 等位基因》

作者: Hong X, Zhang J, Ying Y, et al.

来源: Transfusion. 2020 Aug 26.

样本来源: 两个先证者(先证者 1, 先证者 2)是中国患者。他们的标本在 ABO 血型分型中表现出不寻常的反应模式; 然后, 样本被送到我们的免疫血液学参比实验室进行进一步检测。

### ABO 表型测定和吸收放散试验结果:

TABLE 1 Results of serologic grouping and ABO gene analysis

Proband	Forward typing test					Reverse typing test			Absorption and elution test Eluate with A cells	Phenotype	Genotype
	Anti-A	Anti-B	Anti-AB	Anti-A1	Anti-H	A cells	B cells	O cells			
Proband 1	0	0	0	0	3+	1+	4+	0	±	A <sub>el</sub>	ABO*AEL(c.322C>T), ABO*O.01.02
Proband 2	0	0	0	0	4+	2+	4+	0	1+	A <sub>el</sub>	ABO*AEL(c.410C>T), ABO*O.01.01

ABO 全编码区域核苷酸序列分析结果: 先证者 1: ABO\*A1.02/ABO\*O.01.02 基因型, 322 位存在单核苷酸错配; 先证者 2: ABO\*A1.02/ABO\*O.01.01 基因型, 410 位存在单核苷酸替换。

下一代测序(NGS)结果: 用 NGS 分析 ABO 的全长序列(Illumina Miseq 测序仪)。在红细胞特异性调节元件区域中没有发现其他突变。

**ABO 单倍型分析结果：**在 2 个先证者中鉴定出两个新的 A 等位基因。

**讨论：**与 ABO\*A1.02 相比，先证者 1 中的新 A 等位基因 C 在 322 位存在 C 到 T 单核苷酸替换(c.322C>T)，导致 108 号密码子过早终止。先证者 2 的另一个新等位基因与 ABO\*A1.02 的不同之处在于 410 位存在 C 到 T 的单核苷酸替换(c.410C>T)，这导致了在第 137 号密码子上氨基酸从丙氨酸转变为缬氨酸(p.Ala137Val)。这两个等位基因的序列已提交到 GenBank 数据库(登录号为 MK393879 和 MN434060)。之前发现 c.322C>T 存在于 ABO\*O.05 等位基因中，c.410C>T 存在于 ABO\*B3.07 中。然而，在我们的研究中，A 等位基因中 c.322C>T 虽然导致提前终止密码子，但仍然表达非常弱的 A 抗原。此外，dbSNP 中也发现 c.322C>T 和 c.410C>T 突变，频率分别为 0.000012 (rs77805226)和 0.000008 (rs782080286)。

## 16 《临床罕见的类孟买血型检测鉴定(附 1 例报告)》

**作者：**潘英芳，徐群，孙昌魁，宋永红，李京，吕红娟，周娜，乔文本

**来源：**山东医药 2020 年第 60 卷第 9 期

**摘要：**目的：探讨临床罕见的类孟买血型检测鉴定方法，以指导临床输血。方法：针对初检 ABO 血型正反定型结果不符的献血者样本，采用免疫血清学方法鉴定其 ABO 血型、H 抗原、Lea 抗原、Leb 抗原、弱 A 抗原、弱 B 抗原、弱 H 抗原、不规则抗体。提取献血者血液基因组 DNA，鉴定其 ABO 血型基因型并对 FUT1 基因进行测序。结果：献血者 ABO 血型正反定型反应表现为 O 型，反定型反应表现为 A 型，正反定型结果不符；献血者红细胞上未检测到 H 抗原，Lea 抗原阴性、Leb 抗原阳性，Lewis 血型系统定型为 Le(a-b+)；献血者红细胞仅吸收放散出抗-A 抗体；不规则抗体为抗 H 抗体。献血者 ABO 血型基因型为 AA 型。FUT1 基因第四外显子第 658 位点发生了 C 碱基突变为 T 碱基的改变，即 c.658C>T，且该突变为纯合突变。结论：发现 1 例临床罕见的 A 型类孟买血型；对临床鉴定困难且怀疑为罕见类孟买血型的血液样本，在免疫血清学方法鉴定不能明确的情况下，可进行基因检测明确其血型，指导临床输血。

**样本来源：**山东省血液中心检验科送检的献血者外周血样本 5mL，初检献血者 ABO 血型正反定型反应表现为 O 型，反定型反应表现为 A 型，ABO 血型正反定型不符，血型鉴定困难。

**血型免疫血清学检测结果：**ABO 血型鉴定结果显示，献血者 ABO 血型正反定型反应表现为 O 型，反定型反应表现为 A 型，正反定型结果不符。红细胞 H 抗原、Lea 抗原、Leb 抗原鉴定结果显示，献血者红细胞上未检测到 H 抗原，Lea 抗原阴性、Leb 抗原阳性，Lewis 血型系统定型为 Le(a-b+)，初步考虑该献血者血型为孟买血型。红细胞弱 A 抗原、弱 B 抗原、弱 H 抗原检测结果显示，献血者红细胞仅吸收放散出抗-A 抗体，推断该献血者血型可能为 A 型类孟买血型。不规则抗体筛查和鉴定结果显示，在 4℃ 与室温条件下，盐水介质中不规则抗体反应均呈阳性；在 37℃ 条件下，盐水介质及抗人球蛋白介质均呈阴性，推断该不规则抗体为室温性抗 H 抗体。

**基因测序结果：**使用 TIANGEN 血液基因组 DNA 提取试剂盒提取献血者血液基因组 DNA，测定其浓度和纯度后，送天津市秀鹏生物技术开发有限公司鉴定其 ABO 血型基因型并对 FUT1 基因进行测序。献血者 ABO 血型基因型为 AA 型。FUT1 基因第四外显子第 658 位点发生了 C 碱基突变为 T 碱基的改变，即 c.658C>T，且该突变为纯合突变，判断献血者血型为 A 型类孟买血型。

**讨论：**临床实践中，常规的血清学 ABO 血型初筛定型时，类孟买血型样本正反定型反应往往表现为红细胞抗原与抗-A/抗-B 试剂反应无凝集，而反定型试验血清中一般可以检测到稍弱的抗-A 抗体和(或)抗-B 抗体，因

此,类孟买血型在 ABO 血型初筛过程中经常被错误的定型为 O 型。而由于该献血者血清中存在弱抗-H 抗体,当该献血者作为受血者输入普通 O 型红细胞时,可能发生急性输血反应。而作为献血者,该献血者的红细胞及血清一旦输入 O 型受血者体内,同样会发生不可预测的输血反应。因此,针对本例罕见稀有血型献血者红细胞,我们建议将献血者红细胞冰冻保存,一旦同类血型紧急用血时,可以解冻该红细胞,同时我们也联系家属,建议其亲属也进行血型检测,有助于紧急情况下的互助使用。另外,在献血者知情同意的基础上,我们也将其信息编入山东省血液中心临床输血稀有血型库以备不时之需。

## 17 《ABO 变异型基因 c.425T>C 突变致 B 抗原弱表达的鉴定分析》

作者:钟锦灶,朱碎永,裘晓乐,林甲进

来源:中国卫生检验杂志 2020 年 2 月第 30 卷第 3 期

**摘要:**目的:探讨 1 例 ABO 变异型基因 c.425T>C 突变对 B 抗原弱表达的鉴定分析。方法:采用凝集法鉴定 ABO 血型,采用聚合酶链反应-序列特异性引物(PCR-SSP)、ABO 亚型基因分型等技术进行基因鉴定和序列分析。结果:先证者红细胞上含弱 B 抗原,血清中含抗-A 抗体;血型基因型为 B01,克隆测序等位基因为 B305 和 O01;B305 等位基因序列与标准序列相比发现 c.425T>C 突变,引起多肽链 P.Met142Thr 替换。结论:ABO 变异型基因 c.425T>C 突变产生 B305 等位基因,引起 B 抗原弱表达。

**样本来源:**先证者,女,38 岁,无输血史,因鉴定 ABO 血型时发现红细胞和单克隆抗-B 血清凝集强度减弱,疑似 B 亚型,随后进行 ABO 血型、基因检测和测序分析。

### 血清学检测结果:

正定型先证者红细胞与抗-A、抗-A1 单克隆抗体不凝集,与抗-B 单克隆抗体凝集 2+,反定型先证者血清与 Ac 凝集 4+,与 Bc、Oc 和自身细胞不凝集(图 1)。

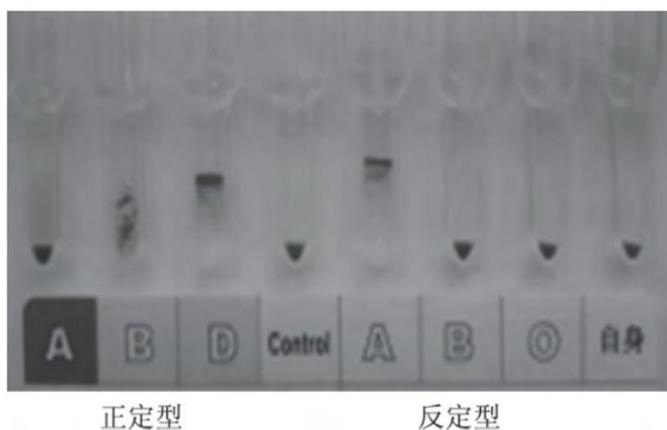


图 1 先证者 ABO 血型正反定型

### B 亚型基因分型结果:

使用人类 ABO 血型 B 亚型基因分型检测试剂盒(天津秀鹏生物技术开发有限公司),实验均由天津秀鹏生物技术开发有限公司技术人员协助完成。PCR-SSP 结果先证者基因分型为 B305/O01。

### ABO 基因分型结果:

ABO 血型 PCR-SSP 基因分型使用人类 ABO 血型基因检测试剂盒(天津秀鹏生物技术开发有限公司),实验

均由天津秀鹏生物技术开发有限公司技术人员协助完成。直接测序分析第 6 外显子存在 261delG，第 7 外显子存在 425T/C、526C/G、657C/T、703A/G、796C/A、803G/C、930G/A 位点杂合，克隆测序等位基因为 B305 和 O01；B305 等位基因序列与 B101 等位基因比对仅 c.425T>C 突变，导致多肽链 P.Met142Thr 替换。

#### 讨论：

根据 NCBI 血型抗原基因突变数据库分析显示，425 位碱基 T/C 突变有 2 种等位基因，它们是 Ael06、B305，含有 425T/C 突变 Ael06 等位基因引起 A 糖基转移酶活性的显著下降，仅能在吸收放散实验中检出的 Ael 表型，而 B 等位基因 425T/C 突变引起 B3 表型。本例先证者检测结果：ABO 基因型为 B01，克隆测序为 B305 和 O01， $\alpha$ -1, 3-D-半乳糖基转移酶基因 c.425T>C 突变，改变其酶的高度保守区域，减弱糖基转移酶的活性，导致 B 抗原表达的减弱，该突变可能是引起 B305 亚型分子遗传机制；在血清学上比正常 B 抗原凝集反应弱，没有出现类似报道的 B3 亚型的混合外观特异性表现，表明 B305 等位基因与不同等位基因相互组合，其血清学表现也有所不同，其机制有待于今后通过群体调查，结合体外表达验证和探讨。

ABO 变异型个体的输血原则国内尚缺乏明确的描述，基本上遵循同型或相容性输注原则，对于 B 亚型的先证者作为受血者。从现有的血清学特征和分子机理来看，理想的血液是 B 亚型相同血源，但来源非常困难，B 亚型血型作为特殊的群体，在血清学鉴定时很容易被误认为 O 型，若输了 O 型血液，或误定为 O 型的 B 亚型供血者的血液，输给 O 型患者，都会出现严重的输血反应。因此，在日常血型鉴定工作中，认真进行红细胞血型正反定型，对一些特殊亚型红细胞采用血清学检测与基因序列分析相结合的方法，探讨其亚型的分子基础，对保证罕见 ABO 变异型的研究和临床安全输血策略具有重要意义。

下期主题: Rh 最近研究



为中国血型基因检测贡献力量!!!  
为人民服务!!!



天津秀鹏生物微信公众平台  
与您分享专业的体外诊断信息

更多内容请登录秀鹏生物网站

[www.biosuper.com](http://www.biosuper.com)