

ABO 疑难血型基因检测专刊**2018 年 10 月****编者导读:**

ABO 疑难血型常表现为:

1) 正定型与反定型不一致; 2) 血型“改变”, 两次定型不一致; 3) 弱凝集, 难判断+/-; 4) 与 ABO “同型血”, 交叉配血不合; 5) 与 ABO “同型血”交叉配血“相合”, 但输血时发生了输血反应; 6) 与 ABO “同型血”交叉配血相合, 输血无反应, 但 Hb 升高值未达到预期效果等。

对于 ABO 疑难血型标本进一步做不规则抗体筛查、吸收放散、唾液血型物质、凝集抑制等试验项目(如文献 16)。但在特殊情况下, 如红细胞被自身抗体致敏(如文献 9 提到的自身免疫性溶血性贫血症)、表型被疾病干扰(如文献 6 和 7 提到的恶性实体肿瘤和白血病)、ABO 亚型(如文献 3 和 4 提到的常见的 A2 亚型、文献 2 和文献 5 提到的类孟买等稀有亚型)、新生儿及老年人群(如文献 8)、长期输血导致产生同种抗体和不规则抗体等疑难血型和问题血样(如溶血、脂血、不新鲜血液、黄疸等)在应用血清学方法的检测结果存在疑问时, 再进行分子生物学基因分型方法是正确判定血型不可缺少的辅助手段(见文献 1、12、13、14、15)。

鉴定 ABO 疑难血型, 在传统血清学鉴定技术基础上结合 ABO 基因分型检测, 能简便、快速、准确地鉴定疑难 ABO 血型, 不受自身抗体干扰、不必作家系调查、不必重复采血、不必考虑是否为分泌型, 不必依赖于使用存在争议的 O 型洗涤红细胞(见文献 10、11), 顺利解决疑难血型鉴定问题及输血后问题, 弥补传统血型血清学鉴定技术的缺陷。

目录

1 《PCR-SSP 对潜在输血需要住院患者 ABO 基因分型的检测效果与意义》.....	3
2 《血型变异型与临床输血》	5
3 《常见 ABO 抗原和稀有 A2 抗原同步基因分型的研究》.....	6
4 《A2 亚型的血清学和分子生物学的对比分析》	7
5 《PCR-SSP 技术应用于类孟买血型定型的可行性---附 2 例报告》.....	8
6 《恶性肿瘤患者输血前疑难配血原因分析及处理对策》	9
7 《分子生物学鉴定急性白血病患者 ABO 血型抗原》	10
8 《新生儿交叉配血不合的原因分析及处理对策》	11
9 《自身免疫性溶血性贫血患者输血治疗效果分析》	12
10 《血液病患者 ABO 血型抗原减弱及其输血对策》.....	12
11 《广州地区洗涤红细胞临床应用分析》.....	13
12 《疑难 ABO 血型标本的血清学与基因测序分析》	14
13 《ABO 疑难血型鉴定中应用 PCR-SSP 法的探讨》	16
14 《ABO 血型正反定型不一致原因分析及对策探讨》	17
15 《15 例 ABO 疑难血型的基因分析》	18
16 《疑难 ABO 血型鉴定分析》	19
17 《ABO 血型基因研究进展》	19
18 《后基因组时代的免疫血液学》	20

ABO 疑难血型基因检测专刊（探讨）

（编辑：艾丽萍）

1 《PCR-SSP 对潜在输血需要住院患者 ABO 基因分型的检测效果与意义》

作者：李俊勋，詹洁瑜，张帆等

来源：中山大学学报（医学科学版）第 34 卷第 5 期 2013 年 9 月

摘要：

目的：调查潜在输血需要住院患者的 ABO 血型基因，分析 ABO 表型相同输血中 ABO 基因型的错配输血几率。方法：对 502 例潜在输血需要的住院患者，采用血清学方法和聚合酶链反应-序列特异性扩增技术 (PCR-SSP) 检测 ABO 血型的表型及基因型。比较两种方法学对 ABO 血型表型的一致率；统计各 ABO 等位基因及各 ABO 基因型的频率；并分析潜在输血需要的住院患者在接受 ABO 血型表型相同的输血时，ABO 基因错配输血几率。结果：血清学与 PCR-SSP 对 502 例潜在输血需要的住院患者的 ABO 表型识别的一致率为 100%。PCR-SSP 技术检测出患者中常见 ABO 基因 5 个(O1、O2、A1、B1 及 A2)以及 ABO 基因型 16 个(O1O2、O1O1、B1O1、A1O1、A1O2、11O2、O2O2、A1B1、A1A1、B1B1、A2O1、A2O2、A2B1 和 A1A2)，而血清学仅能识别 ABO 表型。潜在输血需要住院的患者在接受 ABO 血型表型相同的随机输血中，与供者之间 ABO 基因型的错配率分别为：A 型 65.98%，B 型 57.39%，O 型 56.95%，AB 型 22.55%。结论：PCR-SSP 能识别 ABO 基因型，不仅可以作为血清学的有力补充，而且可能揭示输血治疗中不明原因的输血不良反应的临床原因，具有重要临床意义。

现行的 ABO 血型分型方法是具有百年历史的传统血清学技术，虽能满足大部分临床需求，但受疾病引起血型抗原变异及无法准确预测胎儿/新生儿溶血病等局限。因此，国外已有不少学者开始提倡在临床患者

中实行血清学技术和分子生物学技术并行，确认 ABO 表型及 ABO 基因型，以最大限度地改善输血治疗效果

本文对已知表型结果的 502 例潜在输血需要的住院患者，应用血清学方法（serology）和聚合酶链反应—序列特异性扩增技术（PCR-SSP）方法，进行 ABO 血型的表型和基因型检测，并分析 ABO 表型相同输血时的 ABO 基因错配几率，以期为临床上通过开展 ABO 基因分型达到提高临床安全输血的可行性做出探讨性的初步研究。

讨论：

检测血型抗原和抗体的经典方法是血清学方法。该技术简单，需要设备少，适合多数的普通患者。尽管如此，血清学方法的方法学缺陷不可忽视，如：仅能检测血清学的表型、难以检测某些亚型及杂合子，难以对最近输血病人进行表型分型，难以对包被 IgG 的红细胞进行表型分型，无法准确预测胎儿/新生儿溶血病风险等。

本研究采用 Serology 及 PCR-SSP 对 502 例潜在输血需要住院患者的 ABO 血型进行比较分析，两者结果之间的吻合率为 100%。在 ABO 表型一致的情况下，基因型可能一致，可能半相合，也可能完全不一致。由此可见，PCR-SSP 方法是一种能快速、准确、可靠基因型的方法，可作为血清学方法的有力补充。

根据本研究数据计算，A 型与 O 型患者分别有 5.29% 与 7.41% 的概率出现供、受者 ABO 血型基因 2 个均不相同的情况。按照公式计算，总体的 MM2 为 5.60%。这就意味着，尽管是同表型输血或配型，既往临床上无论是输血或是器官移植配型时，仍有 5.60% 完全异基因错配机率。这种情况很可能引起临床上的无效输注或移植后急性排斥反应。

肖露露等曾对 12 例既往有输血记录的表型为 A2 及 A2B 的患者血清进行检测，发现其中 8 例在血清中存在抗 A1 抗体。更有文献证实，A 型血型受者接受 A 型血型的供肾后发生周期性急性排斥反应，源于受者为 A201 基因型，而供肾为 A101 基因型，术后产生 IgG 和 IgM 型抗 A1 抗体导致周期性急性排斥反应。上述研究提示，供受者间 ABO 血型基因错配是导致器官移植急性排斥反应的重要血液学因素。

PCR-SSP 的检测结果不仅 100% 与血清学吻合，而且克服了血清学的方法学限制，可能揭示血清学无法解释的输血不良反应问题，可作为血清学的常规补充技术。

综上所述，PCR-SSP 方法有助于解释 ABO 同型输血产生不良反应的原因，有助于解释供、受者在 HLA 配型良好、群体反应性抗体阴性时仍发生严重排斥反应的原因，有助于解决 ABO 基因错配造血干细胞一致

有效输血的问题。因此，我们认为，有必要全面推广 PCR-SSPABO 基因分型方法的临床应用。

2 《血型变异型与临床输血》

作者：邵超鹏，庄乃保

来源：中国输血杂志2009年7月第22卷第7期

综述：

随着现代医学理论的不断发展和医疗技术水平的不断提高，临床医疗行为中不论是诊断、还是治疗都较以往为患者考虑得更加细致、深入和全面，患者得到的医治效果和在治疗过程中的安全性获得了更大、更多的保障。临床输血治疗也是如此，如患者因血型不合引起输血不良反应的情况在不断减少，就我国而言，自 1998 年起规定患者输血前要做 Rh 血型检测后，临床输血安全性进一步提高。随着各地血站、医院的血型参比实验室或输血前交叉配血实验室条件的不断改善，无论是供血者、还是受血者的血型鉴定结果都具有良好的可靠性。然而一个新的问题——血型抗原的亚型或变异体的临床输血问题——也因此出现在我们面前。分子生物学研究的不断深入使我们对大部分血型系统的分子机制、血型抗原的基因和等位基因已近乎充分了解，各种血型抗原变异体的分子基础也不断地被阐明，使我们能够采用常规的 PCR 技术就可以检测、鉴定或进一步证实许多血型抗原的亚型或变异体。

ABO 血型系统亚型的临床意义：其最重要的临床意义在于变异型个体血清中存在不规则抗-A 或抗-B(指同时存在 A 抗原和抗-A 或 B 抗原和抗-B)、以及红细胞存在难以检测的弱的 A 抗原或(和)B 抗原，二者均可能引起溶血性输血反应(在此我们暂不讨论胎母同种免疫)。最常见的 A2 亚型中一些个体血清中存在不规则抗-A1，特别是 A2B 亚型，其血清中存在不规则抗-A1 的比例要高于 A2 亚型个体；A2(A2B)以外其它 ABO 亚型中检出不规则抗-A 或抗-B 的几率则远高于 A2 亚型个体，在这些亚型中 A 亚型不规则抗体的检出率要高于 B 亚型个体。有研究者在 66 个 ABO 亚型中，共检出不规则 ABO 抗体 46 例(70%)，其中的 22 例 A 亚型中不规则抗-A1 检出率达 91%(20 例)，41 例 B 亚型中不规则抗-B 检出率为 56%(23 例)，而 3 例 Cis-AB 和 B(A)型则都检出有强的不规则 ABO 抗体；同一调查还显示 35 个 A2B 亚型个体中检出抗-A15 例(约占 14%)，而 14 例 A2 型中则连 1 例抗-A1 也未检出。

ABO 亚型个体的这些抗体通常很弱，且多为冷抗体，往往在 37℃ 时活性降低或没有活性，所以很容易漏检；但也有一些不规则抗-A 或抗-B 在 37℃ 时具有活性，如有人对 45 名 ABO 亚型个体的血清抗体进行检测，发现 13 例存在不规则抗-A 或抗-B(29%)，其中 2 例的不规则抗-A 或抗-B，37℃ 时仍有活性。所以，即使体外试验表明血清不规则抗-A 或抗-B 在 37℃ 时活性很低或没有活性，在临床输血中依然不可忽视可能存在的风险。

ABO 亚型之所以能被发现，主要原因就是其血型正反定型不合、输血前交叉配血不合，或在发生输血不良反应后的实验室处理中发现等，因此亚型的试验结果与正常检测结果常有不同之处(高效价的 ABO 抗血清容易造成一些正定反应较强、且血清不含不规则抗体的 A2 或 A2B 亚型漏检)。大部分 ABO 亚型通过唾液 ABH 物质测定，红细胞与抗-A、-B、-AB、-H 和-A1 的反应结果(包括强、弱或混合视野)，血清与 A、B、A1、O、A2 细胞和自身细胞的反应结果，吸收放散试验，以及 A、B 转移酶的检测等试验，便基本可以判定。根据这些抗原抗体反应结果所形成的反应格局判定为哪一种亚型时，目前可依据的书籍或文献较多，较常使用的如肖星甫主编的《输血技术手册》(四川科学技术出版社，1992)或直接使用最新英文原版的 AABB 技术手册，以及 Geoff Daniels 主编的 Human Blood Groups(该书国内已有中文版《人类血型》)。欣慰的是，因为大多数 ABO 亚型都观察到多个不同等位基因，且这些等位基因的碱基变异多很明确，因此 DNA 检测是进一步鉴定血清学模糊反应结果标本的有力手段，包括 PCR 直接测定碱基变异，可以采用商业试剂盒，也可根据 dbRBC 数据库提供的变异资料自行设计引物检测，或直接进行 ABO 基因序列分析(一般分析第 6、7 外显子即可)。

3 《常见 ABO 抗原和稀有 A2 抗原同步基因分型的研究》

作者：喻琼，梁延连，邓志辉等

来源：中国输血杂志 2006 年 10 月第 19 卷第 5 期

摘要：

目的：建立人类 ABO 血型系统的同步基因分型法研究 ABO 血型。方法：采用 PCR-SSP 技术，设计合成 13 对序列特异性引物，摸索最佳退火温度，通过调整引物浓度、Mg²⁺浓度等，使 ABO 系统等位基因在同一条件下进行同步扩增和扩增产物在同一凝胶中进行同步电泳；使用此方法，检测 34 例已知血清学 ABO

血型的与 20 例已知序列的 A2 亚型标本。结果：用基因分型法检测出的 ABO 常见基因和 A2 基因，与已知血清学 ABO 分型结果相符合。结论：该 ABO 基因分型方法适合中国人 ABO 基因常规鉴定与研究。

在常规血清学鉴定中，时常会遇到 ABO 血型鉴定困难。随着分子生物学技术的发展，人类 ABO 基因遗传背景已逐渐明确，运用基因分型技术可以很好地帮助血型的正确鉴定，在一定情况下可以不必进行家系调查和血清学试验，便可准确定型；ABO 基因分型的建立还可以用于造血干细胞移植存活的植入证明、新生儿溶血病的预防及司法鉴定等领域中。笔者在研究中国汉族人群 ABO 基因遗传背景的基础上，采用 PCR-SSP 技术，通过设计特异性引物、摸索最佳退火温度及调节 Mg^{2+} 和引物浓度等条件，对中国人常见的 ABO 基因及较为罕见 A2 亚型基因进行同步扩增；用该法对已知 ABO 血清型的标本及已知基因序列的 A2 亚型标本做基因分型，简便、直观，适合中国汉族人 ABO 基因的鉴定以及用于人类 ABO 血型的研究。

讨论：目前人类 ABO 血型检测方法有 2 种：一是经典的血清学方法，二是基因方法。血清学方法的缺点是需要新鲜红细胞，而基因方法由于弥补了这方面的缺陷，因此已逐步运用于临床血型检测中，其中 PCR-SSP 方法又以其简便、快速、准确的特点，在血型鉴定中广泛应用。

A2 亚型是 ABO 血型中常见的变异型，随着临床医学的发展，人们越来越认识到它的重要性。比如近 10 年来，发现 A2 亚型的器官(心脏、肝、肾脏等)供者捐给非 A 型(B、O 型)的受者显著延长存活率，从而加大了供体库的数量；A2 亚型的成分血液(血小板)可称为“万能”成分血。如果在基因检测中没有针对中国人 A2 亚型基因特异性的引物，会造成不正确定型，可能会误定为 A1 型。ABO 基因检测可解决 ABO 疑难血型鉴定问题，保障临床血液的安全输注。本 PCR-SSP 方法可对 ABO 常见基因及所有已报道的 A2 基因分型、同步电泳、一次性可获得受检者 ABO 血型的基因型 ABO 基因分型将有助于在中国各个地区开展更为广泛的 ABO 血型研究，并将创造出一定的经济价值。

4 《A2 亚型的血清学和分子生物学的对比分析》

作者：黄颖，林甲进，朱碎永等

来源：中国卫生检验杂志2017年2月第27卷第4期

摘要：

目的：探讨红细胞 A2 亚型在血型血清学和分子生物学的异同点。方法：用单克隆抗-A、抗-B、抗-A1

血型试剂进行血清学检测，对血清学检测为 A2 亚型的标本再进行 ABO 基因第 6 内含子和第 7 外显子测序分析。结果：血清学检测共筛得 40 例 A2 亚型标本，基因检测得 10 例 A2 亚型，27 例 A1 型，3 例 B(A) 亚型；A2 亚型以 A205 居多，非 A2 型以 A102/B101 居多。结论：中国人群红细胞 A2 亚型的血清学与基因型表现比较复杂，血清学表现为 A2 亚型，但基因型具有多样性，而且红细胞上 A 抗原的凝集强度与基因型之间不存在相关性。

讨论：有研究报道 A2 亚型器官移植给非 A 型的受者，长期效果与同血型移植相似。因此，A2 亚型研究有重大意义。本研究结果发现血清学表现为 A2 亚型，但基因型具有多样性，与台湾及国内报道相一致，而 40 例标本中，基因型以 A102/B101 最常见，这种现象在一些文献中也有报道，其机制有待于进一步研究。

本研究还发现 A2 亚型标本红细胞上 A 抗原的凝集强度与基因型之间不存在相关性，同一凝集强度可以表现为不同的基因型，而同一基因型也存在不同的凝集强度。

本研究除了检测到 A2 和 A1 型外，还发现了 3 例 B(A)亚型，这 3 例亚型标本的血清学反应格局与 A2 亚型很相近，仅通过血清学检测难以判断，通过基因检测发现这 3 例标本在 640 位碱基发生了 A>G 的突变，符合 B(A)04 的特点，所以认为基因检测是判断 B(A)亚型和 A2 亚型的有效方法。

5 《PCR-SSP 技术应用于类孟买血型定型的可行性

----附 2 例报告》

作者：许桂芳，梁伟，杨亮等

来源：中国输血杂志2014年5月第27卷第5期

摘要：

目的：探讨 PCR-SSP 技术用于类孟买血型快速定型的可行性。方法：利用 Primer5 软件针对 A101 等位基因 cDNA 第 261、703SNP 位点不同的碱基自主设计 4 对序列特异性引物，对 2 例血清定型疑似类孟买血型做 PCR-SSP 检测，并对其 ABO 基因第 6、7 外显子和 FUT1 基因做测序分析。结果：2 例检测对象基因型分别为 B/B、A/O；ABO 基因测序分别为 B101/B101、A101/O01，FUT1 基因测序分别为 FUT1 基因第 547-552 位 AG 纯合缺失(AGAGAG→AGAG)，547-552 位 AG 杂合缺失和 658 位 C→T 杂合突变。

结论:PCR-SSP 方法可用于类孟买血型的快速分子初筛,作为 1 种独立的实验手段弥补血清学定型的不足,提高疑似类孟买血型定型的准确率。

讨论:PCR-SSP 技术作为 1 种非常有用的血型鉴定技术,克服了血型血清学方法的限制,为临床解决了一些疑难血型鉴定问题,可作为血型参比室鉴定 ABO 正反定型不符时的独立鉴定手段,时可省去费时费劲的家系调查,是 1 种非常准确和快捷的 ABO 血型定型手段,值得临床输血相关实验室借鉴。

6 《恶性肿瘤患者输血前疑难配血原因分析及处理对策》

作者:童风琴,李彩云,柯婷婷等

来源:WorldLatestMedicineInformation(ElectronicVersion)2017Vo1.17No.51

摘要:

目的:探讨临床恶性肿瘤患者输血前疑难配血的原因及其相应的处理对策。方法:对 62 例南京市浦口区中心医院 2013 年 10 月-2016 年 10 月临床恶性肿瘤患者疑难配血标本,采用 ABO 正反定型、抗体筛选及谱细胞分析等,分析其疑难配血产生的原因。结果:临床备血患者 8222 名中,疑难配血者 159 例(1.9%),疾病分布比例依次为恶性肿瘤、消化道出血、骨折、再生障碍性贫血、肺部感染、慢性肾衰竭等;62 例恶性肿瘤疑难配血中,正定型不符由抗原减弱引起 11 例(17.8%),反定型不合由抗体减弱引起 12 例(19.4%),同种抗体阳性引起 18 例(29.0%),冷凝集素引起 11 例(17.8%),大量输液及药物引起 3 例(4.8%),血浆球蛋白异常 3 例(4.8%),血型不合的干细胞移植 3 例(4.8%),近期输血 1 例(1.6%)。恶性肿瘤患者疑难配血中共检测出不规则抗体 20 例,其中抗-E6 例、抗-C4 例、抗-M3 例、抗-Lea3 例、抗-JKa2 例、抗-JKb1 例、抗-Leb1 例,疾病分布中以血液肿瘤系统分布最多。结论:通过分析恶性肿瘤患者输血前疑难配血的原因,从而及时采取有效措施,来提高临床输血的安全性。

讨论:临床上碰到的很多疾病都需要输血去治疗,安全输血已经成为了治疗和抢救患者的重要措施。随着医学的发展,临床对输血的要求越来越高,这就需要医护人员在极短的时间内准确无误地保证输血的安全性,但是在实际临床工作中,很多因素都可能对患者的血型鉴定及交叉配血产生影响,给输血造成了很大的困扰。我们总结了引起恶性肿瘤患者正反定型不一致及交叉配血不合产生的原因,分析了不同疾病的肿瘤患者不规则抗体分布情况,阐述了针对不同的情况应采取的相应措施,从而保证输血技术人员能够

快速准确无误地做出判断，对提高输血安全性具有重要意义。

7 《分子生物学鉴定急性白血病患者 ABO 血型抗原》

作者：陈青，李平，陆乐等

来源：临床输血学杂志2015，28（2）

摘要：

目的：应用分子生物学方法鉴定急性白血病患者 ABO 血型抗原，确定患者 ABO 血型正反定型不符的原因。方法：选取临床正反定型不一致白血病患者，常规血清学 ABO 血型正反定型；直接和间接抗人球蛋白试验检测不规则抗体；吸收放散法鉴定弱血型抗原；PCR 方法扩增 ABO 基因的 7 个外显子及侧翼内含子，扩增产物进行测序及序列分析。结果：患者正定型为 AB 亚型，反定型为 AB 型；直抗和间抗为阴性；吸收放散试验证明红细胞上存在弱 A 和 B 抗原；ABO 基因扩增产物测序结果表明其基因型为 ABO*A102/B101。结论：该白血病患者经分子生物学方法确定为正常 AB 型，其血型抗原减弱由白血病所致。基因分型法可以正确区分血型抗原减弱或亚型。

正确鉴定 ABO 血型对于临床安全、有效输血具有重要意义。但是，常规血清学方法常常会遇到正反定型不一致，如血型抗原减弱、血清抗体减弱或存在不规则抗体等。目前，国内绝大多数输血机构对于 ABO 正反定型不一致的个体仍然采用分析分泌液中存在的可溶性抗原、吸收放散试验等血清学方法。但是，对于非分泌型个体、血清学亚型相似个体之间的患者，血清学方法就很难区分。因此，应用分子生物学方法进行基因定型可区分血清学亚型或由疾病导致的抗原减弱等。本研究对 1 例出现 ABO 血型正反定型不一致的急性白血病患者进行基因分型。

讨论：本报道中的患者在正定型时，表现为红细胞与抗 A 和抗 B 呈弱凝集反应，反定型与 O、A 和 B 型红细胞均不凝集，吸收放散证明了红细胞存在 A 和 B 抗原。但是，血清学上难以区分患者是 AB 亚型或疾病导致的抗原减弱。研究表明，白血病患者 ABO 血型的基因存在许多变异体，有文献报道采用基因分型的方法分析了 108 例白血病患者 ABO 血型的等位基因，发现 25 例（23%）患者有 22 种新的 ABO 变异体，表明白血病患者 ABO 基因有较高水平的重组活性。此外，某些白血病患者的 ABO 基因并未发生突变，A 或 B 抗原表达减弱甚至缺失，可能与恶性疾病引起的红细胞系增生降低，导致 A 或 B 基因产物不足或者欠

缺所致，而不是由于酶作用底物缺乏所致。因此，我们对该患者进行 ABO 血型的基因分型。经测序分析该患者具有正常的 A102 和 B101 等位基因，这表明该患者 ABO 血型的基因未发生突变，而是其红细胞上血型抗原表达减弱。但是，导致该患者红细胞上 A 和 B 抗原表达减弱的具体机制尚不清楚。

总之，血清学作为血型鉴定的经典方法在输血医学中起重要作用。但是，在分析一些疑难血型时，血清学方法尚存在不足，如我们报道的该例白血病患者，血清学方法就不能区分出该患者是 AB 亚型还是疾病导致的抗原减弱所致。因此，必须依赖基因分型方法正确区分。使用基因分型的方法，可以正确进行 ABO 疑难血型的定型，给临床正确输血提供理论依据，保障患者输血的安全性和有效性。为今后真正实现临床患者的个体化血液管理，保障医疗安全、提高医疗质量提供有力支撑。

8 《新生儿交叉配血不合的原因分析及处理对策》

作者：徐阳曦，刘振北等

来源：广西医学 2018 年 3 月第 40 卷第 6 期

摘要：

目的：探讨新生儿交叉配血不合的原因及其处理方法。方法：对送检的 25 份新生儿交叉配血不合标本进行 ABO 和 Rh(D)血型鉴定、抗人球蛋白实验、新生儿溶血病检查、抗体鉴定、交叉配血实验。结果：25 份血标本中：(1)11 份 A 型 Rh(D)阳性标本均检出 IgG 抗 A 抗体，交叉配血不合的原因是由于血液中含有 IgG 抗 A 抗体，给予 O 型 Rh(D)阳性洗涤红细胞进行交叉配血相合，输血后 11 例新生儿均无输血反应。(2)11 份 B 型 Rh(D)阳性标本均检出 IgG 抗 B 抗体，交叉配血不合的原因是血液中含有 IgG 抗 B 抗体，给予 O 型 Rh(D)阳性洗涤红细胞进行交叉配血相合，输血后 11 例新生儿均无输血反应。(3)3 份 O 型 Rh(D)阳性标本检测抗 IgG 均为阳性，抗 C3 均为阴性；其中有 2 份标本检出 IgG 抗 D 抗体，其交叉配血不合的原因是血液中含有 IgG 抗 D 抗体，给予 O 型 Rh(D)阴性洗涤红细胞进行交叉配血相合，输血后 2 例患儿均无输血反应；1 份标本检出 IgG 抗 E 抗体，其交叉配血不合的原因是血液中含有 IgG 抗 E 抗体，给予 O 型 Rh(D)阳性 E 抗原阴性洗涤红细胞进行交叉配血相合，输血后无输血反应。结论：新生儿交叉配血不合的主要原因是母体内的 IgG 抗体进入新生儿体内，应使用检出相对应抗体的抗原阴性血液进行交叉配血。

9 《自身免疫性溶血性贫血患者输血治疗效果分析》

作者：孙英

来源：临床研究 2018 年 3 月第 26 卷第 3 期

摘要：

目的：探讨自身免疫性溶血性贫血患者输血治疗的临床效果。方法：收集我院 2012 年 6 月~2016 年 3 月收治的 60 例自身免疫性溶血性贫血患者为研究对象，通过筛查血型血清学特征，按照红细胞成分、自身抗体类型对输血治疗效果进行分析。结果：60 例患者共进行不相合红细胞输血 118 次。其中 ABO 同型非洗涤红细胞组 74 次，总有效率 79.7%，O 型洗涤红细胞组 44 次，总有效率 77.3%。两组输血治疗效果无显著差异($P<0.05$)；根据自身抗体将患者分为 IgM 组和 IgG 组。IgM 组共输血 36 次，总有效率 80.6%，IgG 组共输血 82 次，总有效率 82.9%，两次输血治疗效果无显著差异($P<0.05$)。结论：ABO 同型非洗涤红细胞输血和 O 型洗涤红细胞具有同等的疗效，均可获得很好的临床效果。

10 《血液病患者 ABO 血型抗原减弱及其输血对策》

作者：周雪丽，阎石，陆荣等

来源：临床输血与检验 2007 年 10 月第 9 卷第 4 期

摘要：

目的：探讨血液病患者 ABO 血型抗原减弱与疾病的关系，以制定相应的输血措施。方法：查阅 1993~2005 年所有 ABO 血型抗原减弱患者的病历，记录诊断及输血情况，随机选择同期血型抗原正常表达患者为对照组，比较两组患者的输血情况，并进行统计学处理。结果：12 年间共查出 57 例血型抗原减弱患者，其中 AML41 例、CML3 例、MDS10 例、MF3 例。均予同型血输注，疗效与对照组相比差异无显著性。结论：ABO 血型抗原减弱在血液病患者中较常见，最多见于急、慢性非淋巴细胞白血病及骨髓增生异常综合征，随疾病缓解，减弱的血型抗原可恢复正常。输血时以输同型血为原则，不必输“O”型洗涤红细胞。

讨论：文献中有关输血选择的意见并不统一，有的输同型血，也有的输“O”型洗涤红细胞。我院患者

经 ABO 血型确定后均予同型血输注，无溶血性输血反应发生，经统计学分析输血效果与正常对照组的差异无显著性，而输“O”型洗涤红细胞不仅增加了不必要的经济支出，还由于洗涤过程中部分红细胞丢失，降低了输血效果。因此，我们不建议此类患者输注“O”型洗涤红细胞。

11 《广州地区洗涤红细胞临床应用分析》

作者：张伟东，黄爽，关飞舜等

来源：中国输血杂志 2012 年 5 月第 25 卷第 5 期

摘要：

目的：回顾性的对广州地区临床洗涤红细胞应用情况进行调查分析，旨在为洗涤红细胞的合理、有效应用提供依据，避免血液资源的浪费。方法：调查占广州血液中心血液供应量约 70% 的 10 家三级甲等医院，统计分析 2008～2010 年洗涤红细胞的使用增长情况；调查洗涤红细胞用量增幅最大的医院 2008～2010 年输注洗涤红细胞患者的疾病诊断情况。结果广州地区 10 家三级甲等医院洗涤红细胞用量 2009 年比 2008 年增长了 26.4%，2010 年比 2009 年增长了 22.4%，呈逐年增长趋势；洗涤红细胞用量增幅最大的医院再生障碍性贫血患者和地中海贫血患者洗涤红细胞的用量所占百分比由 2008 年的 3.7% 和 8.6%，上升到 2010 年的 19.8% 和 27.3%。结论：随着成份输血的普及，洗涤红细胞的优点已被临床充分了解和应用，但其存在的缺点却未引起足够的重视，在实际应用中造成血液用量的不必要增加；建议各级血站加大对临床医生血液制品相关知识的培训，使有限的血液资源发挥最大作用。

洗涤红细胞因去除了绝大部分的血浆、白细胞，以及在保存过程中产生的钾、氨、乳酸等代谢产物，相对减少了输血相关不良反应的发生，因此临床上广泛用于：①输入全血或血浆后发生过敏反应(荨麻疹、血管神经性水肿、过敏性休克等)的患者；②AIHA 和 PNH 患者；③高钾血症及肝、肾功能障碍患者；④由于反复输血已产生白细胞或血小板抗体引起输血发热反应的患者。但洗涤红细胞由于制备过程的局限性，在分离白膜和反复洗涤的过程中，不仅会丢失约 30% 的红细胞，而且红细胞亦会受到一定程度的机械损伤，造成红细胞脆性增加，输入后的红细胞生存期限缩短，影响输注效果；目前国内大部分血站洗涤红细胞的制备方法仍然采用开放式的盐水洗涤法，制备过程会破坏原血袋的密闭系统，反复洗涤开放过程中被细菌

污染的概率也较大，容易增加患者感染的几率。因此并不提倡常规输注洗涤红细胞。

再生障碍性贫血是一组因化学、物理、生物因素及不明原因所致的骨髓造血功能障碍的一类贫血，病人会出现全血细胞明显减少，早期输血是缓解症状的一种手段，长时间后机体会产生一定的耐受力；地中海贫血是一种遗传性贫血，长期定期输血是治疗重症地中海贫血的重要手段。两种疾病输血时重点是防止患者产生同种抗体，延长红细胞输注间隔时间，减少红细胞在体内衰老破坏的数量，因此输注的血液制品必须满足：一是去除白细胞抗原；二是能较长时间在患者体内有效存活。洗涤红细胞由于去除了绝大部分的白细胞，但洗涤红细胞制备的方法是将上层的血浆及白膜层(含有大量网织红细胞)去除，其丢失的约 30% 的红细胞绝大多数是年轻红细胞，而且输注 1U 的洗涤红细胞的红细胞数量仅为 1U 悬浮红细胞的 70%，因此我们认为洗涤红细胞不应作为再生障碍性贫血和重症地中海贫血患者输血治疗的首选制品。

12 《疑难 ABO 血型标本的血清学与基因测序分析》

作者：刘衍春，马玲，郑凌等

来源：江苏医药 2015 年 4 月第 41 卷第 8 期

摘要：

目的：分析疑难 ABO 血型标本的表型与相应等位基因。方法：采用试管法检测 32 例患者及献血者的血清学表型，Sanger 双碱基 DNA 分子测序方法检测 ABO 等位基因。结果：32 例 ABO 血型亚型的表型中，A 抗原性减弱、B 抗原性减弱、AB 抗原性减弱、CisAB 和 B(A) 分别为 7、4、8、6 和 7 例；出现的等位基因有 A101、A102、A311、Ael、Ax02、Ax13、Bw03、Bw11、O01、O02、CisAB01、CisAB08、B(A)02 和 B(A)04 等。结论：血清学方法对疑难 ABO 血型，尤其是亚型的鉴定存在一定的局限性，血型基因测序分析的方法可以较好地厘清血清学模糊的定型结果。

ABO 血型系统是临床输血中最重要的血型系统之一，采用血清学方法可以将其表型分成约 10 余个亚型，由于方法、试剂及抗原变异等原因，对于抗原抗体反应不规则的结果，往往难以做出准确的鉴定，给疑难血型鉴定甚至临床患者的输血带来一定的困难。随着基因检测技术的发展，结合 DNA 分子测序技术可以较好的厘清疑难血型表型混淆的检测结果，对临床输血的安全性提供了很好的技术支持。

标本来源：各地临床患者配血及血型定型标本 12 份〔包括白血病、骨髓增生异常综合征(MDS)、胃

癌、骨折、糖尿病、肾衰竭等], 各地献血者标本 20 份, 共计 32 份, 均为 EDTA-K2 抗凝全血。

表 1 7 例 A 抗原性减弱标本的测序结果

序号	标本来源	血型表型	基因型	主要碱基突变
1	白血病	Aw	A101/A102	外 7:467C/外 7:467T
2	MDS	Aw	A101/A102	外 7:467C/外 7:467T
3	献血者	Aw	A102/O02	外 7:467C>T/外 6:261 缺失 G,297A>G
4	献血者	Aw	A102/O02	外 7:467C>T/外 6:261 缺失 G,297A>G
5	献血者	A3	A311/O02	外 7:467C>T,626G>A/外 6:261 缺失 G,297A>G
6	糖尿病	Ael	Ael02/O01	外 7:467C>T,646T>A,681G>A/外 6:261 缺失 G
7	不育症	Ael	Ax02/A101	外 6:297A>G;外 7:646T>A,681G>A,771C>T,829G>A/外 7:467C

注: 血型表型的“w”为“weak”的略写, 表示血型抗原性减弱, 非指 Aw 亚型, 下同。“/”前后分别为基因型的两个单倍型。外 6、外 7 分别表示 ABO 基因外显子 6 和外显子 7。

表 2 8 例 AB 表型的血清学表现与测序结果

序号	标本来源	血型表型	基因型	主要碱基突变
1	献血者	ABx	A101/B101	外 7:467C/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,796C>A,803G>C,930G>A
2	献血者	ABx	A101/Bw03	外 7:467C/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,721C>T,796C>A,803G>C,930G>A
3	白血病	AB 混合视野	A102/B101	外 7:467T/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,796C>A,803G>C,930G>A
4	献血者	ABx	A102/Bw03	外 7:467T/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,721C>T,796C>A,803G>C,930G>A
5	献血者	AwB	A102/B101	外 7:467T/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,796C>A,803G>C,930G>A
6	献血者	A3B	A102/B101	外 7:467T/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,796C>A,803G>C,930G>A
7	献血者	A3B	Ax13/B101	外 7:940A>G/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,796C>A,803G>C,930G>A
8	献血者	AxB	Ax13/B101	外 7:940A>G/外 6:297A>G;外 7:526C>G,657C>T,703G>A,796C>A,803G>C,930G>A

注: 第 2、4 例的基因型 Bw03 下标“w”表示相应的等位基因种类。

讨论: 根据血清学凝集有无及程度差异的不同, 可将 ABO 血型系统分为 A、B、O、AB 表型及不同的亚型。在实际工作中, 由于使用的单克隆试剂的克隆株不同、试剂特性 (亲和力、特异性等) 的差异、操作者的有区别、检测条件的不同、抗原基因的突变等, 往往在血型抗原、抗体差异程度的判断上出现不同, 结果对血型标本的检测结论也不尽相同。在实际工作中, 我们发现一些 A 或 B 血型抗原性的减弱及正反定型不符的结果对于确定其亚型, 存在似是而非的情况。由于人源抗血清的日益减少和单克隆血型抗体的广泛使用, 其血清学的结果有时并不与传统的标准亚型表型反应格局相一致, 故用“weak”的“W”下标来表示表型抗原性的减弱可能更合适一些。

简而言之, 就临床输血的可行性而言, 在当今血液成分输血的情况下按照相容性的原则, 绝大部分的输血问题可以得到解决。但就具体的血型表型确认而言, 血清学的方法在亚型的鉴定上有时还是存在一定的局限性, 采用血型血清学和 DNA 分子测序相结合的方法, 不仅可以较好的解决临床输血问题, 同时也能厘清血清学易于混淆的结果。

13 《ABO 疑难血型鉴定中应用 PCR-SSP 法的探讨》

作者：钟胜英

来源：中国当代医药 2017 年 7 月第 24 卷第 21 期

摘要：

目的：对 ABO 疑难血型鉴定中应用 PCR-SSP 法的临床价值进行探讨。方法：选取 2015 年 1 月~2016 年 12 月我院收治的 225 例 ABO 疑难血型受试者，分别给予 PCR-SSP 法和血清学定型方法进行检测，对比相关数据差异。结果：PCR-SSP 法与血清学定型方法的检测结果比较，差异均有统计学意义（ $P<0.05$ ）。结论：PCR-SSP 法在 ABO 疑难血型鉴定中临床应用价值高，值得临床输血工作者关注。

曾有文献报道，造成 ABO 血型鉴定不相符的影响因素包括：①血型鉴定技术因素：定性试剂血清失效，或者是红细胞悬液、试剂血清、盐水被细菌污染，或者是加血标本的过程中发生交叉污染，技术人员并没有严格的按照操作规程展开相应试验，如：试管中未加入定型试剂血清，加错血标本；患者红细胞悬液浓度过低；离心操作时间过短；没有进行反定型，仅通过肉眼对结果进行观察；在血型抗原性减弱的情况下，微弱细小凝集并未被发现；试管没有进行标记，在离心完成后，试管拿错，造成张冠李戴现象的发生；没有正确对血型鉴定结果进行解释和记录，将 ABO 定型试剂血清的“抗 A 或者是抗 B 血清”被误认为是 A 型或者是 B 型血清，并未认识到在试验过程中，溶血现象同样是阳性反应，进而造成结果判断失误。②患者血清或者是红细胞因素：血型抗体减弱或缺乏会造成 ABO 血型正反定型不符情况，如：老年人群的血清抗体效价相对较低，新生儿的血清中 ABO 抗体一般呈现为阴性或者是很弱，因此，多不会对婴儿展开 ABO 反定型。对于白血病患者而言，其多合并低病种球蛋白血症，淋巴瘤患者会合并出现低丙种球蛋白血症，免疫抑制剂的应用会造成低丙种球蛋白血症的出现，一些免疫缺陷患者，血清中 ABO 抗体与红细胞抗原不一致，因此会对血型鉴定结果产生影响。曾有研究指出，红细胞抗原性减弱或者是缺乏会造成 ABO 血型正反定型不符情况发生，譬如说 A 或者是 B 亚型。白血病患者以及一些恶性肿瘤患者的红细胞 A 或者是 B 抗原性减弱。

综上所述，PCR-SSP 法在 ABO 疑难血型鉴定中的应用价值较高，在临床输血工作中可对其给予广泛应用，不仅能够明确 ABO 血型，还能准确诊断 A1O1、A1O2、A2O1、A2O2、A1A2、A1A1、BO1、BO2、

BB、O1O1、O1O2、A1B、A2B 等分布情况，经基因检验均可以对血型进行确定，同型输血效果较为理想。

14 《ABO 血型正反定型不一致原因分析及对策探讨》

作者：王超，吕蓉，李素萍

来源：中国输血杂志 2013 年 7 月第 26 卷第 7 期

摘要：

目的：探讨 ABO 血型定型中正反定型不一致的原因和解决方法。方法：对正反定型不一致血液标本进行不同的血型血清学试验，对存在疑问的标本进行基因分型、测序，分析正反定型不一致的原因，进行正确的红细胞分型。结果：共检查 ABO 血型正反定型不一致标本 45 例，其中冷自身抗体 5 例、亚型 11 例、抗体缺失及减少 7 例、抗原性减弱 10 例、因输血或妊娠发生同种抗体 5 例，自身免疫性贫血 7 例。对其中 9 例血型血清学难鉴定标本和亚型标本进行 PCR 扩增，测序，确定其基因型。结论：对 ABO 血型正反定型不一致无法定型的血液标本，可以采用基因分型及其他辅助手段正确鉴定 ABO 血型，以保证输血安全性和有效性。

表 1 各种原因引起的 45 例疑难血型鉴定结果分析

	<i>n</i>	鉴定方法	鉴定结果
冷自身抗体	5	37℃ 的生理盐水洗涤或巯基乙醇处理红细胞	正确鉴定占 11.1%
亚型	11	吸收放散试验、唾液血型物质的检测、基因分型	5 例不能完全定型占 24.4%
抗体缺失或减弱	7	4℃ 下放置、吸收放散试验、基因分型	2 例不能完全定型占 15.6%
抗原减弱	10	4℃ 放置、吸收放散试验、唾液血型物质检测及基因分型	2 例不能完全定型占 22.2%
自免溶贫血	7	45℃ 生理盐水温度和洗脱去除大部分自身抗体定型	正确鉴定占 15.6%
同种抗体	5	MP 法、抗球蛋白法、谱细胞抗体筛选及鉴定	正确鉴定占 11.1%

15《15 例 ABO 疑难血型的基因分析》

作者：李兴华，王恩波，刘衍春等

来源：临床血液学杂志 2017 年第 30 卷第 8 期

摘要：

目的：通过 ABO 血型基因分析，协助临床血清学疑难血型标本的鉴定。方法：血型血清学方法采用凝胶卡法，疑难的标本采用试管法进一步分析鉴定；同时进行血型基因测序分析。结果：15 例疑难血型标本中出现 CisAB01、B(A)02、ABmh 类孟买型等位基因标本。结论：采用基因分析的方法，可以提供疑难血型血清学标本表型鉴定的佐证，确认血清学不易检测的结果，更好的保证输血安全。

表 1 15 例疑难 ABO 血型标本的血清学及基因型表

标本号	疾病	正定型			反定型			其他-H	表型(初定)	基因型
		-A	-B	-AB	Ac	Bc	Oc			
标本 1	CIN	2+	4+	4+	2+	—	—	3+s	B(A)	B(A)04/O02
标本 2	心衰	4+	1+s	4+	—	1+	—	3+	CisAB	cisAB01/O01
标本 3	产检	2+s	4+	Nt.	2+	—	—	2+s	B(A)	B(A)02/O01
标本 4	产检	1+	4+	4+	4+	—	—	4+	B(A)	B(A)04/O01
标本 5	胃癌	2+	4+	4+	2+	—	—	3+	B(A)	B(A)04/O01
标本 6	体检	1+	4+	Nt.	±	—	—	3+	B(A)	B(A)04/O02
标本 7	前列腺增生	—	—	—	4+	1+	—	Nt.	O 型,-B 减弱	B101/O01
标本 8	下颌骨骨折	—	—	—	4+	1+	—	Nt.	O 型,-B 减弱	B101/O01
标本 9	肠绞痛	4+	1+(吸)	4+	—	1+	—	Nt.	反定,-B 减弱	A101/A101
标本 10	白血病	±/mf	—	±	—	4+	Nt.	Nt.	A3,混合外观	A102/A102
标本 11	MDS	±	—	Nt.	1+W	4+	—	Nt.	正定:A 弱	A101/A102
标本 12	疝气手术	4+	4+w	4+	—	2+w	—	4+	CisAB	cisAB01/O02
标本 13	乳腺外科	4+	—	Nt.	—	—	—	2+	正定:检出 A;反定:无-A、-B	A102/O01
标本 14	痔疮	1+	4+	4+	3+	—	—	4+	B(A)	Nt
标本 15	孕检	1+	±	1+s	1+	±	±	—	正定:A、B 减弱,-H 阴性;反定:检出弱-A、弱-B	FUT1649Th7/ FUT1880delTTh 2

注：-A：表示抗 A 抗体；Ac：表示 A 细胞；“Nt”：表示未检测；血清学结果中“/”表示 2 个实验；(吸)：表示吸收放散试验；基因型中“/”号前后分别表示 2 条 DNA 链；mf：混合外观。

16 《疑难 ABO 血型鉴定分析》

作者：宋建伟，徐灵，曹昌柏等

来源：临床血液学杂志，2017 年 30 卷 4 期

表 1 49 例血型疑难样本分析解疑汇总

干扰因素	例数	解决方法
弱抗原、弱抗体	7	洗涤红细胞, 抗原抗体增强试验
自身冷凝集反应	3	预温法+自身红细胞 4℃ 吸收试验
自身免疫性溶血反应	1	洗涤孵育+对照组
红细胞过大	2	镜检+对照组
血浆蛋白异常	4	洗涤红细胞+生理盐水悬液试验
ABO 亚型	5	吸收-放散试验+血型物质检测+特殊分型试剂
血液病	9	吸收-放散试验+血型物质检测+抗原抗体增强反应
骨髓移植术后	3	输 O 型洗涤红或 AB 型血浆
婴幼儿（抗体未产生）	11	只做正定型, 反定型只做参考
其他	4	吸收-放散试验+血型物质检测+抗原抗体增强反应

17 《ABO 血型基因研究进展》

作者：喻琼

来源：中国输血杂志2006年2月第19卷第1期

摘要：

不同的 ABO 亚型可能有其共同的分子生物学基础，而不同的分子生物学基础可能造成类似的血清学反应格局。造成经典血清学与分子生物学分类不一致的原因可能有两个：一是不同实验室及操作者对血清学中弱凝集的判断有差异，二是由于大量单克隆血清代替多克隆血清在临床上广泛的使用，故以前单独以血清学为基础分类亚型的适当性值得探讨。

近几年来，ABO 基因分型技术克服了血型血清学方法的限制，已是一种比较独立简便的分型方法，为临床解决了一些疑难血型鉴定问题，得到广泛应用。ABO 亚型、血型抗原减弱反应、抗体消失、获得性 B 的鉴定、Cis-AB、类孟买型、血型嵌合体等正反定型不符的样本，使用 DNA 分型技术，迎刃而解，在一些

情况下可以不必做繁杂的一系列血清学试验。例如红细胞直接抗球蛋白试验为阳性的患者，使用血清学方法难以鉴定血型，而基因分型技术可以解决。**ABO** 基因分型技术还可以用于造血干细胞移植存活的植入证明，在接受不同 **ABO** 血型的造血干细胞移植的患者体内出现供者 **ABO** 基因的时间大大短于出现供者 **ABO** 血型的时间。

笔者认为应在全国成立血型研究协作组，有目的的收集各个民族 **ABO** 血型、各类 **ABO** 亚型及家系样本；利用各种技术手段扩大 **ABO** 基因研究范围，加强对内含子、增强子调控等区域进行分析；阐明中国各个民族血型分子生物学机制，发现鉴定新的变异，保存有价值的有核细胞株；研制简便易行的血型基因分型试剂应用于临床。

ABO 基因的研究，对人类基因多态性、遗传异质性和基因的重组和嵌合现象机制的研究有着重大的意义。在过去十年多的时间里，克隆及测序实验技术大大提高了对 **ABO** 血型系统分子基础的认识，分子生物学知识的发展解答了一系列问题，但同时又不断提出了许多新问题：一些 **ABO** 变异表型的分子背景、临床 **ABO** 定型、控制 **ABO** 转录的调控因素的进一步描述、观察杂合基因频率及重要性、可能涉及到的序列进展等等有待去研究。

18 《后基因组时代的免疫血液学》

作者：赵桐茂

来源：中国输血杂志 2010 年 10 月第 23 卷第 10 期

摘要：

将一个人的红细胞和其他人的血清混合在一起，有时会观察到红细胞凝集现象，在血清学上被称为“红细胞凝集反应”。这个简单的凝集试验至今有 110 年以上的历史，它不仅开创了血液学的 1 个分支免疫血液学，使输血疗法成为 1 种安全有效的治疗手段，而且成为鉴定红细胞血型的“金标准”。以抗原抗体反应为基础的细胞凝集技术，不仅鉴定出 **ABO** 等红细胞血型系统，而且揭示了白细胞、粒细胞、以及血小板等其他血液成分也都带有同种抗原。

20 世纪前半期，在免疫血液学领域中，基本上使用免疫血清学方法、生物化学、以及经典遗传学等方法，检测血液各种组份的抗原、抗体以及他们的相互作用；在表型水平上阐述抗原及其多态性的遗传学关

系。从广义上来说，所有使用血清学方法检测出来的血液成分遗传多态性，都可以看作为血型。事实上除了通常说的红细胞血型以外，白细胞、粒细胞、血小板、血浆蛋白等都有各自的血型系统。

目前被正式命名的红细胞血型系统有 30 个，包括将近 300 个血型抗原，除了 P 血型系统外，其他血型基因均已被克隆。除了血型系统之外，还检测出近 20 个频率<1%的低频率血型抗原，以及 10 余例频率高于 90%的高频率血型抗原。

人类白细胞抗原 HLA 系统被检测，导致产生一门出新的交叉学科免疫遗传学。HLA 遗传区位于第 6 号染色体短臂，包含大约 400 万个碱基，已检出 80 多个座位。至 2010 年，与 HLA 有关的 53 个遗传座位已被 WHO 命名。HLA 基因具有高度的多态性，在随机人群中很难找到 HLA 型完全相同的 2 个个体。

自 1959 年第 1 个人类血小板抗原(HPA)被鉴定以来，使用血清学方法至今已检出 25 个血小板抗原，其中 23 个血小板抗原被正式命名，相应基因遗传多态性的分子基础也被阐明。首例人类中性粒细胞抗原(HNA)于 1960 年被发现，至今已检测出 8 个粒细胞抗原，相应的多态性分子基础也都被阐明。

20 世纪 1960 年代起，分子生物学技术发展迅猛，引领生物医学研究逐渐进入基因水平，免疫血液学领域当无例外。1989 年 ABO 血型基因被克隆，标志着免疫血液学开始进入分子水平，并产生了一门新的交叉学科“分子免疫血液学”。该学科的主要任务是使用分子生物学技术，研究血型抗原多态性的分子基础；在分子水平上检测基因多态性；研究血型基因的定位，血型基因结构和基因表达；发展以 DNA 为基础的血型基因分型技术；在基因水平上解释免疫血液学中观察到的一些现象。这方面取得的新知识已被用于临床输血、组织配型、胎母免疫作用诊断、亲子关系鉴定，以及血型抗原体外表达等许多方面。

从上个世纪末延续到现今，免疫血液学研究领域的一个特点是检测出大量的血型基因变异体。比如 30 个红细胞血型系统受控于 41 个遗传座位，至今已检测出 1167 个等位基因。其中编码 ABO 血型的等位基因就有 241 个之多，RHD 和 RHCE 座位的等位基因数已达到 256 个，而且新等位基因都还在不断增加。HLA 基因分型在全球范围内被用于挑选无关骨髓供者，所以检测出的等位基因数目与日俱增。目前检测出 HLA-I 类抗原的等位基因有 3937 个；HLA-II 类抗原的等位基因有 1253 个。其中 HLA-A、B、C 座位等位基因数分别为 1193、1419 和 829 个；HLA-DRB1 座位有 809 个。虽然凝集反应是鉴定血型的基本方法，但是有其局限性：1)缺少试剂级的单克隆和多克隆抗体，导致鉴定病人和供者血型，以及鉴定筛选抗体用标准红细胞的困难；2)一些有临床意义的弱反应抗体容易被漏检；3)血清学交叉反应不能检测出所有的不配合性；4)红细胞凝集反应先天的局限性，难以自动化操作。而以 DNA 为检材的基因分型技术，不受血型抗体来源

以及生物活性细胞的限制。采用高通量基因分型平台可以检测血型基因变异体。

为了推进血型基因分型，国际输血协会(ISBT)已召开多次《红细胞血型基因分型专题讨论会》，对输血医学工作者加强分子生物学技术训练。欧洲通过“高通量红细胞血型基因分型研究计划”，对血液供者做大规模基因分型，期望建立已知血型基因型的血液供者库，并设想在未来可以根据患者血型基因型选择匹配供者。在 2005 年前后曾出现了一场“血型基因分型是否将取代血型血清学分型”的大辩论。

21 世纪初生物医学研究领域中的一件大事是完成了《人类基因组计划》。此前人们曾认为，完成该项目就有可能揭开生命的全部秘密。然而在 2003 年人类基因组图谱绘出后，既没有揭开生命的秘密，也没有给治疗疾病带来明显的好处。所看到的只是人类基因组中 30 亿个碱基的排列顺序，而对这本“天书”的含意却仍然不解。于是人们从科学研究方法论角度，对这类“大科学”做进一步思考和探讨。

在科学研究方法论上，历来有“还原论”和“整体论”2 大思想体系。“还原论”认为整体或复杂体系可以还原到许多基本要素，只要把单个要素搞清楚了，就可以解决整体的问题。比如揭示了组成生物体的蛋白质、核酸的化学结构和功能，就有可能了解细胞的活动规律，进而解释生命现象。这个逻辑并非全无道理，实际上一个多世纪以来，包括生物学在内的自然科学许多基本原理，是通过“还原论”而建立的。但是我们现在面对的是具有生命的人体，显然是属于“复杂体系”问题。早在 2000 年《自然·医学》杂志一篇编辑部文章就指出，“现在相当多的生物学家认识到，还原论生物学研究除了最简单的问题外，什么问题都解决不了。而生物学中几乎没有简单问题。对于生命这个复杂体系，只有从整体上审视才有可能理解它”。

在完成人类基因组计划后的“后基因组”时代，人们认识到组成整体的各要素之间不是简单的线性关系，各要素之间的相互作用会出现新的产物，这样形成的整体大于各要素之和。在此认识的基础上，一些以“组学”为词尾的交叉学科相继出现。比如基因组学、表观基因组学、蛋白质组学、转录组学、代谢组学、相互作用组学、免疫组学等。这些交叉学科的共同特点是以大规模样本作为研究对象；采用高科技、高通量、自动化检测手段；充分利用各种数据库提供的生物信息做分析。它们对输血医学的影响显而易见。比如以及采用蛋白质组学技术，可以对红细胞、白细胞、和血小板表面上于数以百计、乃至上千的蛋白质表达和数量变化做定量描述，甚至可以追踪供者潜在的病变；基因组学技术用于核酸检测血液病原分子；随着疾病诊断和治疗向“个体医学”方向发展，全基因组测序将成为常规检测，测序费用可降低到 1000 美元或更低。最新的半导体测序技术直接将化学编码信息转换为半导体芯片数字。可望测序速度有可能按半

导体技术的摩尔定律，每 18 个月增加一倍。这些技术直接涉及到骨髓库供者 HLA 基因分型；与此同时，造血干细胞体外扩增等也进入细胞输注疗法范畴。

在此大环境下，经典免疫血液学和分子免疫血液学很自然地整合在一起，形成了“后基因组时代免疫血液学”。在整合的前提下，血清学方法和基因分型方法取长补短，相互补充，不存在谁取代谁的问题。当今血清学技术还在继续推陈出新。比如采用流式细胞仪检测 ABO 亚型、无需离心机的磁化红细胞凝集作用，以及活塞微流体技术检测凝集反应等；而以 DNA 为检材的基因分型可用于疑难血型鉴定、鉴别 Rh 弱 D 型和 RHD 基因接合性、大规模筛选稀抗原阴性供者、造血干细胞供者 HLA 分型、血小板供者 HPA 分型，以及确认标准红细胞血型等。

从提高输血安全性方面考虑，向临床提供基因分型的血液制品，从供受者表型匹配逐步升级到基因型匹配，是今后的发展方向。为了适应新时代的需要，一个现代化的免疫血液学实验室，应该具备至少 3 方面的技能：1)血型血清学技术；2)分子生物学技术，包括血型抗原的基因分型，以及体外表达血型抗原蛋白；3)熟练运用网络生物信息数据库的技能。血清学技术相对比较普及，当前加强分子生物学教育显得刻不容缓。

1999 年 12 月，中国输血协会在广州举办“全国输血大会”。我在报告中用了一张标题为“时不待我，机不可失”的幻灯片，其中写到：“抓紧时机建立基因分型技术，不仅是学科本身发展的需要，而且是为了应付日益增强的国际竞争。大量事实表明，如果我们不率先‘占领’我们的资源，那么其他人就会先入为主。如果说我们在血型血清学时代起步晚而落后，那么在分子生物学技术面前人人平等，不再有落后的理由”。感到欣慰的是 10 年后的今天，在国际输血医学的主要学术杂志中，找不到一份没有刊登我国作者研究论文的杂志！后基因组时代免疫血液学已经到来，它不仅对安全输血提出更高的要求，而且对免疫血液学工作者提出了新的挑战。我们期待我国年轻一代的免疫血液学工作者，在下一个 10 年里不仅继续保持国际先进水平，而且能够有所创新，甚至引领世界潮流！



为中国血型基因检测贡献力量!!!

为人民服务!!!