

【前沿研究】高通量、全基因组的献血者抗原分型系统

一、导言

为确保输血安全，常规匹配 ABO 和 RhD 相容的血液。然而，这一策略通常并不适用于其他红细胞抗原，每年约有 3%(50 万)的单次输血患者、60%的长期输血患者对红细胞抗原致敏。致敏可导致 HTRs 终生风险。2013 年至 2017 年，17%(185 例中的 32 例)美国 FDA 与 6%(110 例中的 7 例)英国 SHOT 报告的输血相关死亡由 HTRs 导致。致敏可使输血依赖患者不能输血，并可导致对胎儿有潜在生命威胁的妊娠期溶血性疾病。因此，需要扩展抗原分型，以进行更精确的配血。

基于抗体的检测是目前红细胞抗原分型的金标准；然而，并不是所有临床相关抗原都有可靠的试剂和高通量技术。基于 DNA 的检测已经被用来克服这些限制，有研究表明，通过对 43 066 名献血者进行有限数量的红细胞抗原的基因分型，可以满足 99.8%(5661/5672)复杂的抗原阴性血液需求。但大多数血液供应组织并没有对大量献血者进行基因分型，主要原因有：

- ① 检测成本高；
- ② 现有的检测方法无法对所有临床相关红细胞抗原分型；
- ③ 缺乏自动解释结果的算法；
- ④ 现有的检测方法不包括其他输血相关抗原的分型，如人类白细胞抗原(HLA)和人类血小板抗原(HPA)，这对支持癌症患者是必要的。

一个通用的献血者分型平台必须识别所有临床相关的红细胞抗原用于输血，以及识别 HLA 和 HPA 用于血小板输注。

2020 年 8 月 11 日，输血基因组学联盟(the Blood Transfusion Genomics Consortium)在《Blood Advances》期刊(影响因子 4.584)上发表了一篇前瞻性研究文章——Development and validation of a universal blood donor genotyping platform: a multinational prospective study(通用献血者基因分型平台的开发与验证：一项跨国前瞻性研究)，介绍了其开发的一种高通量、全基因组的献血者抗原分型系统。

二、方法简介

- (一)由输血基因组学联盟的研究人员开发；
- (二)通用的、高通量、全基因组的献血者抗原分型系统；
- (三)利用 DNA 探针阵列技术，包括：
 - (1)1602 个已知的血细胞抗原(红细胞抗原和 HPA)的抗原决定簇 DNA 序列；
 - (2)48 个与抗原表达相关的基因中 9180 个编码变体(在大规模测序数据集中小等位基因频率均>0.02%)：
 - ① 41 个血型抗原基因：XK、XG、SMIM1、SLC4A1、SLC29A1、SLC14A1、SEMA7A、RHD、RHCE、RHAG、KEL、ICAM4、GYPC、GYPB、GYPA、GCNT2、

GBGT1、FUT3、FUT2、FUT1、ERMAP、CR1、CD99、CD59、CD55、CD44、CD31、CD151、C4B、C4A、BSG、BCAM、B3GALNT1、ART4、AQP3、AQP1、ACKR1、ACHE、ABO、ABCG2、A4GALT

② 1 个血型抗原相关基因：KLF1

③ 6 个血小板抗原基因：ITGB3、ITGA2B、ITGA2、GP1BB、GP1BA、CD109

(3)没有改变 HLA 位点的 UKBB 阵列内容。

(四)整合入应用生物系统英国生物库第 2 版 Axiom 阵列(UKBBv2 阵列)，使用 Axiom 基因分型平台对 DNA 样本进行基因分型(步骤见 Axiom Best Practice Workflows)；

(五)使用应用生物系统 Array Power Tools v2.10.2 软件中的 AxiomGT1 算法召唤基因型；

(六)基于 DNA 的抗原分型：

① 使用修正的 bloodTyper 算法从 UKBBv2 阵列数据中估算红细胞和 HPA 类型；

② 使用应用生物系统 HLA Analysis v1.1 算法从 UKBBv2 阵列数据中估算 4 位 HLA 类型。

(七)能够同时对大多数临床相关的红细胞抗原、HPA 和 HLA 进行分型；

(八)每个样本大约 40 美元(包括设备、人工和分析费)

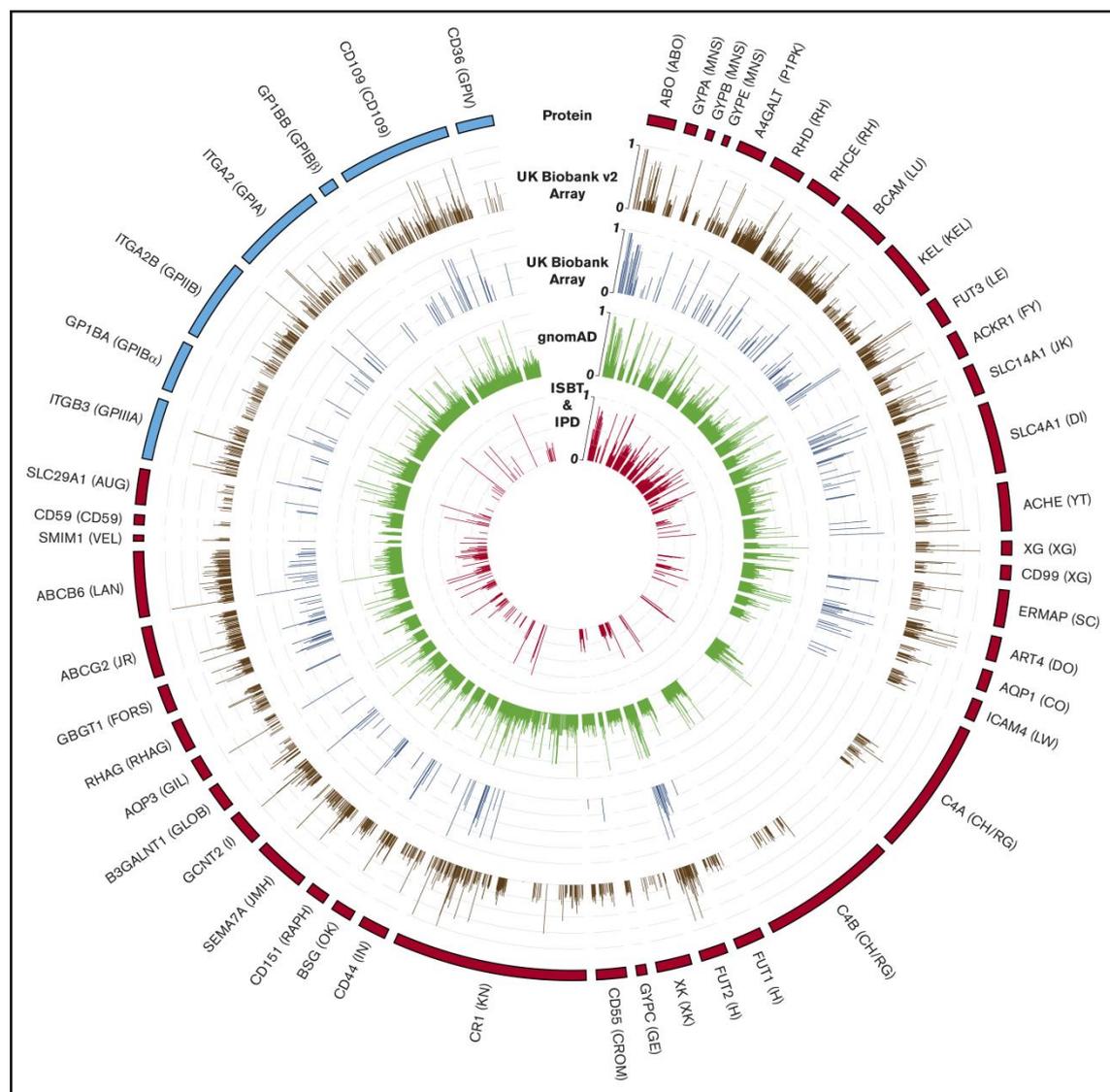


图 1 与阵列内容相比，抗原控制基因的遗传变异。从外向内的轨道(1-5)：
 (1) HPA(蓝色)和红细胞抗原(红色)编码基因；盒子的长度等于蛋白质中氨基酸的数量。基因标签旁标注红细胞和 HPA 系统名称；
 (2 和 3)分别包含在 UK Biobank (UKBB) v2(棕色)和 UKBB(深蓝色)阵列上的编码变体；
 (4) gnomAD 数据库中编码变体(绿色)；
 (5) ISBT 和 IPD-HPA 数据库中抗原编码变体(红色)。
 轨道 2 到 5 的柱长表示 gnomAD 等位基因频率。

三、临床应用

(一)抗原分型(配血)

(1)红细胞抗原和 HPA

1)补充血清学抗原分型结果

- ① 与目前的做法相比，阵列基因分型产生 3.8 倍多的类型(每个献血者 47.9 对 12.6)。
 - ② 阵列基因分型使我们能够对 185 个没有临床分型结果的额外抗原进行分型。
- 综上，阵列基因分型使抗原分型结果总数从 110 980 例增加到 120 000 例。

2)具有多种同种抗体的复杂患者的配血

阵列基因分型使具有多种同种抗体的复杂患者的匹配供者数量增加了 2.6 倍。

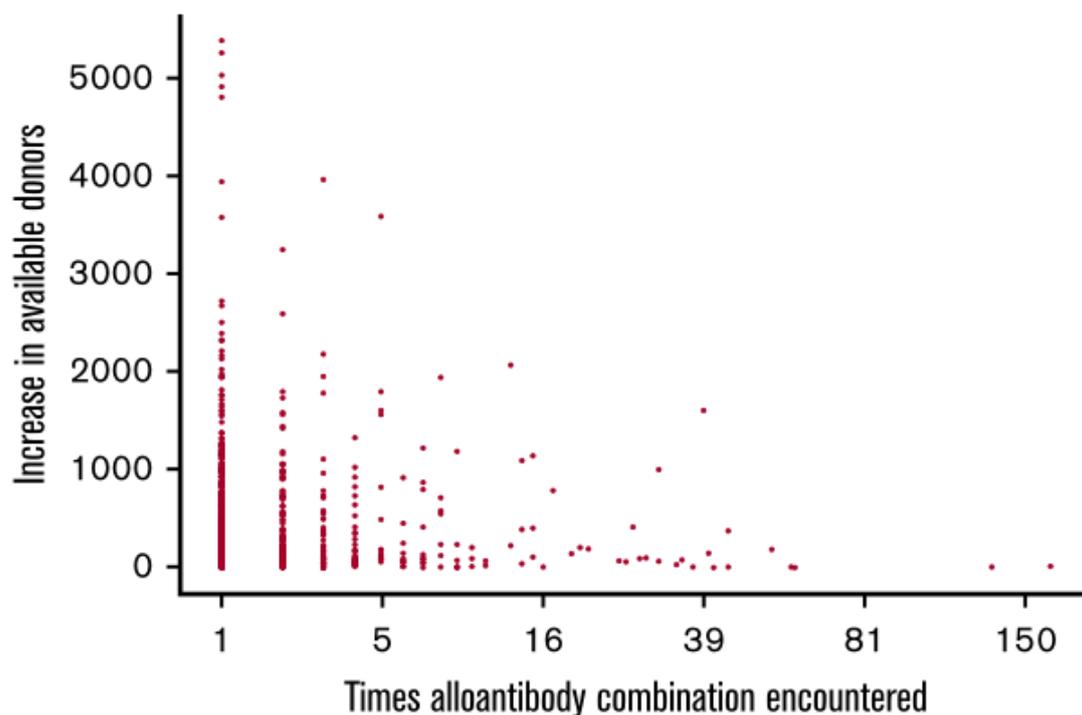


图2 针对在 3146 名有红细胞同种抗体的患者数据中发现的每一种复合同种抗体谱，使用 UKBBv2 阵列而不是临床分型数据时，相容供体数量的增加。

(2)HLA

大多数供血机构维持 HLA I 类单采血小板献血者组，以支持 HLA I 类抗体相关 ABO 相容浓缩血小板难治患者。

(3)HPA

部分有 HLA I 类抗体的患者也形成 HPA 抗体。这些患者需要缺乏相关的 I 类 HLAs 和 HPAs 的浓缩血小板。

(二)疾病风险预测

例如，HFE 基因 NM_000410.3:c.845G>A 纯合子是导致遗传性血色素沉着症最常见的原因。最近的一项研究表明，该基因型的 UKBB 参与者中，21.7%的男性和 9.9%的女性表现为铁超载的病理。利用 UKBBv2 阵列数据，我们在试验集测试中确定 78 例(1%)献血者为该变异的纯合子。这一信息为供血机构提供了一个机会，通过推荐频繁的献血来降低在这些个体中发生此类疾病的风险。

参考文献：

Gleadall NS, Veldhuisen B, Gollub J, Butterworth AS, et al, on behalf of the Blood Transfusion Genomics Consortium. Development and validation of a universal blood donor genotyping platform: a multinational prospective study. Blood Advances 2020; 4(15); 3495-3506.