

•综述•

•红细胞血型专题•

红细胞血型系统研究新进展*

杨东 陈青

【摘要】 血型研究在安全输血、胎儿和新生儿溶血性疾病、器官移植等方面具有重要临床意义。随着下一代基因组测序技术的迅猛发展,仅2020年就有5个新的红细胞血型系统得到正式命名,本文主要围绕CTL2 (ISBT 039)、PEL (ISBT 040)、MAM (ISBT 041)、EMM (ISBT 042)、ABCC1 (ISBT 043)这5个血型系统的研究进展进行综述。

【关键词】 CTL2血型系统 PEL血型系统 MAM血型系统 EMM血型系统 ABCC1血型系统

【中图分类号】 R457 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-2587 (2022) 02-0137-06

血型抗原通常指人类红细胞表面特异性抗原,是由目前已鉴定的血型基因位点遗传多态性引起的遗传特征,这些特异性抗原通常是具有重要功能的蛋白质或糖蛋白^[1-2]。血型研究在输血安全、胎儿和新生儿溶血性疾病、器官移植等方面具有重要意义,同时由于部分血型系统的抗原阴性表达代表着相应编码基因的“自然敲除”,这有助于加深我们对该基因及其编码蛋白功能的理解,也能促进相关功能蛋白代偿机制的研究^[3]。

血型的正确鉴定是安全有效输血的前提。自从1900年Karl Landsteiner发现ABO血型系统,1927年发现了MNS和P血型系统,1945年间接抗球蛋白技术应用后,又陆续发现了更多的红细胞血型系统。随着分子生物学技术的发展和运用,到2010年发现了30个红细胞血型系统。国际输血协会红细胞免疫遗传和血型术语工作组 (ISBT Working Party on Red Cell Immunogenetics and Blood Group Terminology) 负责对红细胞血型系统及相关抗原和等位基因命名,新的血型系统确定时需满足以下5个条件:①抗原必须由人同种异体抗体定义;②该抗原必须具有遗传特征;③编码他的基因必须经过鉴定和测序;④必须知道该基因的染色体位置;⑤该基因必须不同于编码现有血型系统抗原的所有其他基因,不是紧密连锁的同源基因。随着下一代基因组测序 (Next Generation Sequencing, NGS) 技术的迅猛进展,仅2020年,就正式命名了5个新的红细胞血型系统。截至2021年6月,共确定了43个红细胞血型

系统,378个抗原,其中345个抗原属于43个红细胞血型系统,16个属于700低频率抗原,3个属于901高频率抗原,14个属于集合系统抗原。本篇综述主要围绕2020年得到正式命名的CTL2 (ISBT 039)、PEL (ISBT 040)、MAM (ISBT 041)、EMM (ISBT 042)、ABCC1 (ISBT 043)这5个血型系统的研究进展进行论述。

1 CTL2 (ISBT 039) 血型系统研究进展及其临床意义

1.1 发现历史: CTL2血型系统目前发现两种抗原,分别是VER (ISBT 039.001) 抗原和RIF (ISBT 039.002) 抗原。RIF抗原阴性先证者最早发现于2007年,是一名出生在摩洛哥Rif海岸的比利时妇女,在第二次怀孕中查出她的血清与当时所有测试的红细胞均发生反应,抗体效价检测显示高效价低亲和力 (high-titer, low-avidity, HTLA),随后产下一名健康男婴。VER抗原阴性先证者是一名出生在维罗纳的意大利血统法国妇女,2010年因摔伤导致脑出血住院时发现她的血清与当时所有测试的红细胞均发生反应,未发现该抗体的特异性抗原。血清学检测显示RIF抗原阴性个体的血清不与VER抗原阴性个体的红细胞发生反应,但VER抗原阴性个体的血清却与RIF抗原阴性个体的红细胞发生反应,说明RIF抗体与VER抗体并不相同^[4]。

1.2 遗传学研究: VRIGNAUD等^[4]对RIF抗原和VER抗原的遗传学进行了研究,对RIF抗原阴性个体进行全外显子测序 (whole exome sequencing, WES),结果显示RIF抗原阴性个体SLC44A2基因中第1192位碱基C被A取代,第398位氨基酸的脯氨酸被替换为苏氨酸 (c.1192C>A, p.Pro398Thr), 变异染色体坐标为19:10746156, RIF抗原阴性先证者SLC44A2 (c.1192C>A, p.Pro398Thr) 为纯合子变异,她的孩子及兄弟为SLC44A2 (c.1192C>A, p.Pro398Thr) 杂合子变异,表型为RIF抗原阳性,因此RIF抗原阳性个体基因型为显性等位基因纯合子或杂合子, RIF抗原阴性个体基因型为隐性等位基因纯合子。分别将野生型和c.1192C>A变异型SLC44A2基因通过质粒转染至鼠L-929细胞,通过RIF抗体血清对其进行分析,结果显示转染了正常SLC44A2基因的细胞表达RIF抗原,而后者则无RIF抗原表达,证明SLC44A2 (c.1192C>A, p.Pro398Thr) 变异是导致RIF抗原阴性表达的原因;经全外显子测序、引物步移法 (primer walking)、拷贝数变

DOI: 10.3969/j.issn.1671-2587.2022.02.001

*本课题受江苏省“十三五”期间“科教强卫工程”医学重点人才 (No.ZDRCB2016010)、江苏省重点研发计划社会发展项目 (No.BE2015717)、江苏省高层次卫生人才“六个一工程”拔尖人才项目 (No.LGY2017095) 和江苏省第五期“333高层次人才培养工程” (No.2016-III-3344) 资助

作者单位: 211166 南京医科大学 (杨东); 南京医科大学全球健康中心 (陈青); 江苏省血液中心 (陈青)

作者简介: 杨东 (1994-), 男, 吉林延边人, 学士, 主要从事公共卫生与预防医学方面研究, (E-mail) 1105522138@qq.com。

通信作者: 陈青, 女, 研究员, 博士, 硕士生导师, 主要从事输血医学研究工作, (E-mail) chenqing90@yahoo.com。

异分析 (copy number variation, CNV)、Sanger测序显示VER抗原阴性个体虽未发生c.1192C>A变异,但它前14个外显子以及5' UTR区域出现纯合缺失,这种变异导致SLC44A2基因表达完全缺失,VER抗原阴性先证者的姐姐为SLC44A2杂合缺失,表型为VER抗原阳性,因此VER抗原阳性个体基因型为显性等位基因纯合子或杂合子,VER抗原阴性个体基因型为隐性等位基因纯合子。

1.3 临床意义: SLC44A2基因位于染色体19p13.2,具有22个外显子,共编码706个氨基酸^[5],编码产物为胆碱转运蛋白2 (choline transporter-like protein 2, CTL2)。SLC44A2基因多态性与多种疾病有关。

输血相关急性肺损伤 (transfusion-related acute lung injury, TRALI) 是输血期间或输血后6小时内发生的以低氧血症和急性非心源性肺水肿为特点的临床呼吸窘迫综合征^[6]。SLC44A2基因编码的人类中性粒细胞抗原3 (HNA-3a) 被认为是导致TRALI的重要抗体靶标,在CTL2转录变体TV1 (P2) 和TV2 (P1) 中,TV1具有胆碱转运活性,TV2无此活性,但二者与HNA-3a抗体结合的能力相同^[7]。GREINACHER等^[8]研究显示HNA-3a抗体可通过Fab端与CTL2第一个外环特异性结合,诱导表达HNA-3a抗原的中性粒细胞主动聚集而参与TRALI的发生,VRIGNAUD等研究表明VER抗体和RIF抗体均能特异性识别中性粒细胞上的CTL2蛋白 (工作组内部交流内容,暂未发表),但其能否引起TRALI还需进一步研究。

KOMMAREDDI等^[9]在小鼠实验中证明了CTL2蛋白对维持毛细胞生存具有重要作用,SLC44A2基因纯合、杂合敲除小鼠出现了不同程度的年龄相关高频听力丢失,并伴随毛细胞和螺旋神经细胞损伤,VER抗原阴性先证者及其姐姐 (VER抗原阳性,SLC44A2杂合缺失) 均出现了类似高频范围双侧感知性听力障碍^[4]。

CTL2功能目前尚未完全清楚,其中一项重要功能是转运胆碱,胆碱对线粒体呼吸功能具有重要作用,BENNETT等^[10]提出CTL2可介导胆碱转运到线粒体内,其在线粒体内的代谢产物通过调节ATP及ROS释放来促进血小板活化,但目前并没有关于VER抗原阴性个体血小板功能异常的相关报道,可能是某些机制弥补了VER抗原阴性个体缺陷的CTL2蛋白功能所致。

2 PEL (ISBT 040) 血型系统研究进展及临床意义

2.1 发现历史: 1980年DANIELS最早描述了PEL抗原。PEL抗原阴性先证者是一名法裔加拿大妇女,在第二次怀孕期间经抗体筛查被查出,无输血史,婴儿未发生新生儿溶血病,其父母、12个兄弟姐妹及两个孩子的红细胞均与该抗体发生反应;接着又在名为Hugs的法裔加拿大妇女体内发现了PEL抗体,其三个兄弟姐妹的红细胞与该抗体不发生反应,但没有一个相容同胞体内有PEL抗体。由于当时遗传学证据并不清楚,国际输血协会 (ISBT) 将其暂时编号为901014^[11]。

2.2 遗传学研究: AZOUZI等^[12]对三名PEL抗原阴性个体的

红细胞膜进行全蛋白质组学分析,结果显示三者红细胞膜上均无ABCC4/MRP4蛋白,通过拷贝数变异分析、Sanger测序、引物步移法确定了PEL抗原阴性个体中ABCC4基因出现67 528 bp的纯合缺失,去除了最后10个外显子和下游3'UTR区域的一部分,同时伴随着18 bp的核苷酸插入。流式细胞术分析显示稳定转染ABCC4 cDNA的HEK293细胞PEL抗原表达增加,通过CRISPR-Cas9技术敲除HEK293细胞的ABCC4基因完全消除了PEL抗原表达,证明ABCC4基因大量纯合缺失是PEL抗原阴性表型的原因,由于PEL抗原血清学及遗传学已经清楚,国际输血协会 (ISBT) 将其正式命名为第40号PEL血型系统。

ABCC4基因位于染色体13q32.1,有32个外显子,dbSNP数据库中存有超过400多个ABCC4非同义单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) ^[13],AZOUZI等^[12]研究了rs11568658 (p.G187W)、rs2274407 (p.K304N)、rs3765534 (p.E757K) 三种SNP对红细胞表面PEL抗原表达的影响,结果显示三种SNP分别使红细胞表面PEL抗原表达降低了16%、30%和33%,说明ABCC4基因杂合变异可能会影响PEL抗原表达。该基因编码的多药耐药蛋白ABCC4/MRP4属于ATP结合盒 (ATP-binding cassette, ABC) 转运蛋白超家族成员,在血细胞、肝、肾、肺等多种组织中表达^[13],ABC转运蛋白有保守功能域和可变跨膜结构域,用于结合和水解运输能源ATP并与底物结合^[14],该蛋白通过水解ATP产生能量将多种分子输送至细胞外,具有转运信号分子和炎症介质的能力,与多种药物耐药性有关^[15]。

2.3 临床意义: 目前尚无因PEL抗体引起的胎儿和新生儿溶血病例的报道,在不相容输血情况下的临床意义不明,但有研究显示在输注PEL抗原抗体不相容的血液时⁵¹Cr标记的红细胞生存率降低^[11-12],因此还需进一步研究。

ABCC4蛋白在血小板致密颗粒中发挥作用,CHEEPALA等^[16]研究显示ABCC4蛋白在血小板主要表达于质膜,在缺乏ABCC4情况下血小板致密颗粒的功能、体积、数量不受影响,但胶原蛋白诱导的血小板聚集出现损伤,ABCC4蛋白还可通过cAMP蛋白激酶A信号通路来调节血小板聚集^[17]。PEL抗体是目前唯一可以检测到细胞膜表面ABCC4蛋白的探针,AZOUZI等^[12]发现PEL抗原阴性个体血小板计数正常,胶原蛋白诱导的血小板聚集功能也正常,可能是某些代偿机制弥补了ABCC4蛋白相应的功能,PEL抗原阴性个体红细胞膜中ABCG2蛋白表达升高,支持这一假设,作者还发现PEL阴性个体血小板在低ADP浓度时聚集出现损伤,提示ABCC4在血小板聚集的潜在作用。血小板高反应性往往与血栓、动脉粥样硬化等疾病有关,TEMPERILLI等^[18]报告了骨关节炎患者血小板ABCC4高表达与血小板高反应性存在关联,提示ABCC4可能在防治血栓、动脉粥样硬化等疾病中发挥作用。

3 MAM (ISBT 041) 血型系统研究进展及其临床意义

3.1 发现历史: MAM血型系统目前发现一种抗原,即

MAM抗原, 1993年ANDERSON等最早报告了MAM抗原阴性的先证者(M.A.M), 该患者血清中含有未知抗体, 与除她自己外所有测试的红细胞均发生反应, 1997年MONTGOMERY等^[19]报告了第二例血清中有MAM抗体的实例, 该妇女血清与除她自己外所有测试的红细胞均发生反应, 随后又在该妇女的姐姐体内也发现了MAM抗体。由于当时没有明确的遗传学证据, 这种抗原被以先证者的名字命名为MAM抗原, ISBT编号为901016。

3.2 遗传学研究: 对MAM抗原阴性个体的家系研究显示缺乏MAM抗原的遗传特征是常染色体隐性遗传^[19], THORNTON等^[20]对10名MAM抗原阴性个体进行全外显子及Sanger测序, 结果显示这10名MAM抗原阴性个体的*EMP3*基因均存在纯合变异(包括全外显子缺失、单外显子缺失、碱基替换等), 其中c.123C>G(p.Tyr41Ter)变异最为常见, 这些变异均使*EMP3*基因的表达发生实质性改变或完全破坏, 而对MAM抗原阴性个体的亲属(MAM抗原阳性)测序显示*EMP3*基因为杂合变异, 与之前的家系研究结果一致。随后通过CRISPR-Cas9基因敲除技术将人类永生生化红细胞系BEL-A2的*EMP3*基因敲除, 结果显示BEL-A2的MAM抗原表达完全缺失, 证明*EMP3*为MAM抗原的编码基因。由于MAM抗原的血清学及遗传学已经清楚, ISBT正式将其命名为第41号MAM血型系统。

*EMP3*基因位于19q13.3, 具有6个外显子, 基因编码区位于外显子3-6, 该基因编码产物为上皮膜蛋白3(Epithelial membrane proteins 3, *EMP3*), 是外周髓鞘蛋白22(Peripheral myelin protein 22-kDa, PMP22)超家族成员, 是一个18 429 kDa的多通道膜蛋白, 具有四个跨膜结构域和两个N-连接糖基化位点, 分子结构具有蛋白质激酶C磷酸化位点等特征^[21-22]。*EMP3*基因功能目前尚未完全清楚, 有研究显示其在胆囊癌中下调激活了MAPK/ERK信号通路, 从而促进了肿瘤的进展^[23], 显示出*EMP3*在肿瘤细胞增殖中具有一定的调控作用。

3.3 临床意义: MONTGOMERY等^[19]报道了第一例因MAM抗体引起严重的新生儿溶血病(hemolytic disease of newborn, HDN)的案例, 但是否会引起溶血性输血反应目前尚未报道, 不过在输注不相容同种异体红细胞后MAM抗体可能会缩短红细胞的生存时间, 因此MAM抗体被认为是具有临床意义的抗体。

4 EMM (ISBT 042) 血型系统研究进展及其临床意义

4.1 发现历史: DANIELS等^[24]最早报道了Emm抗原阴性先证者的案例, 1973年, 一名出生在马达加斯加的法国裔男子在常规血液检查时发现血清中存在针对高频抗原的未知抗体, 他的三个姐妹的红细胞均与他的血清发生反应, 无输血史, 随后又分别在一名美国妇女、一名巴基斯坦男子体内发现了同样的抗体; 1985年, 在一对加拿大裔法国兄弟体内发现了同样抗体, 两人均无输血史, 提示该抗原具有遗传特征, 由于缺少确切遗传学证据, 国际输血协会(ISBT)将其暂时编号为901008。

4.2 遗传学研究: DUVAL等^[25]对3名Emm抗原阴性个体基因组进行全外显子测序, 结果显示这三名Emm阴性个体*PIGG*基因均存在纯合变异, 三者变异位点分别为c.640C>T(p.His214Tyr)、c.901+1delG和*PIGG*基因4kb的缺失导致外显子6去除。用特异性抗-Emm抗体放散液对Emm抗原阴性个体红细胞进行流式细胞术分析显示, *PIGG*基因变异的红细胞不存在Emm抗原; 通过CRISPR-Cas9技术敲除K562细胞中的*PIGG*基因, 结果显示Emm抗原表达显著降低, 转染*PIGG* (c.640C>T; p.His214Tyr)的cDNA不会使Emm抗原表达增强, 而转染正常*PIGG* cDNA Emm抗原表达增强。LANE等^[26]随后报道了5位Emm抗原阴性个体*PIGG*基因分别出现了c.2624_2625delTA (p.Leu875*)、g.5982_11944del (p.Ala53Glyfs*2)、g.24216_30561del (p.Asp372Alafs*18)、c.361-51_383delinsGACTT (p.Ala121_Pro128delinsAspPhe)、c.1640G>A (p.Trp547*)纯合变异, 以上研究证实了*PIGG*基因为Emm抗原表达的遗传基础, 国际输血协会(ISBT)将其正式命名为第42号Emm血型系统。

*PIGG*基因位于染色体4p16.3, 具有18个外显子。糖基磷脂酰肌醇(glycosylphosphatidylinositol, GPI)是一种可将150多种蛋白锚定在细胞表面的糖脂, 形成的GPI锚定蛋白(GPI-AP)在细胞表面上具有重要作用, 与GPI生物合成有关的基因称为磷脂酰肌醇聚糖(phosphatidylinositol glycan, PIG)基因, 与蛋白质附着后GPI修饰有关的基因称为PGAP(Post-GPI attachment to proteins)基因^[27], *PIGG*又称为磷脂酰肌醇聚糖锚定生物合成G类, 其编码产物是可将乙醇胺磷酸酯(EtNP)与第二个甘露糖连接的酶, 目前在哺乳动物细胞中的生物学功能还未完全清楚^[28]。

4.3 临床意义: 具有Emm抗体的个体在输入不相容血液时会引起严重急性溶血性输血反应^[26], 但目前尚无因Emm抗体导致新生儿溶血病的报道。2014年WAGNER等^[29]报道了一名体内含有Emm抗体的孕妇, 该名妇女产下的男婴未出现新生儿溶血性疾病, 虽然该孕妇的抗体依赖性细胞毒性试验结果低于10%, 提示出现胎儿和新生儿溶血性疾病的可能性较低^[30], 但作者认为该抗体属IgG抗体, 具有导致胎儿和新生儿溶血性疾病的风险, 同时由于缺乏其他类似案例报道, 作者建议有Emm抗体存在的妇女在妊娠中应对胎儿加强监测。Emm抗原阴性个体罕见, LANE等^[26]根据相关等位基因频率推测人群中每877 969人才有一例。由于成纤维细胞对GPI合成中的致病性变异尤其是与*PIGG*有关的变异较为敏感, 作者提出其可能在未来筛查Emm抗原阴性个体中发挥作用。

MAKRYTHANASIS等^[28]报道了5例因*PIGG*基因变异导致癫痫和重度肌张力低下的智力障碍病例, 遗传性GPI缺乏症(IGD)的各种症状通常由GPI-APs表面水平降低或GPI结构异常引起, 但*PIGG*基因变异导致的癫痫和重度肌张力低下的智力障碍患者体内GPI-APs表面水平和GPI结构均正常。与其他PIG不同, *PIGG*不是GPI-AP生物合成所必需

的,其编码产物将乙醇胺磷酸酯与第二个甘露糖连接,但磷酸二酯酶PGAP5随后将第二个甘露糖上的EtNP去除^[31],因此EtNP在成熟的GPI-APs不存在。PARSAMANESH等^[32]报道了伊朗家庭中因*PIGG*编码产物第658位氨基酸由精氨酸被替换为谷氨酰胺(p.Arg658Gln)导致智力障碍病例,但目前*PIGG*缺陷导致智力障碍的分子机制并不清楚,因此*PIGG*与智力障碍之间的关系还需进一步研究。

5 ABCC1 (ISBT 043) 血型系统研究进展及其临床意义

5.1 发现历史:2017年10月,在一名25岁混血(美国、非洲、欧洲)的巴西男性患者体内发现了一种针对高频抗原的未知抗体,该患者9岁时被诊断为肾病,16岁时进行了肾移植,有输血史。该先证者的父母是第一代堂(表)兄妹,其妹妹红细胞与其抗体不相容,而两个弟弟的红细胞与其抗体相容,提示该抗原缺失具有遗传特征。

5.2 遗传学研究:SUGIER等^[33]对ABCC1抗原阴性先证者及其两个弟弟(ABCC1抗原阴性)、妹妹(ABCC1抗原阳性)进行全外显子组测序,通过拷贝数变异分析、引物步移法、Sanger测序显示ABCC1抗原阴性个体的ABCC1基因中存在包括5个外显子(从内含子21-26),总共212 496 bp的大片段纯合缺失,而其妹妹为ABCC1该片段的杂合缺失,通过等位基因特异性PCR证实先证者父母ABCC1基因为杂合缺失,说明ABCC1抗原阴性表型为常染色体隐性遗传。Western blot分析显示先证者红细胞膜中缺失ABCC1蛋白,将ABCC1基因转染至K562细胞中,用先证者抗体放散液对其进行流式细胞术分析显示,ABCC1蛋白是先证者抗体针对的特异性蛋白,证明该抗原表达的遗传学基础是ABCC1基因,由于遗传学证据已经清楚,国际输血协会(ISBT)将其正式命名为第43号ABCC1血型系统。

ABCC1基因位于16p13.11,具有34个外显子,其编码产物为多药耐药蛋白1(multidrug resistance-associated protein 1,MRP1),是ATP结合盒转运蛋白超家族成员,具有三个跨膜结构域和两个核苷酸结合结构域^[34-36],该蛋白可介导释放外源性和内源性有机阴离子,还可通过主动外排减少细胞内药物积累,与多种药物耐药性相关^[37]。

5.3 临床意义:目前暂不清楚ABCC1抗体在输入不相容血液时是否会引起溶血性输血反应,对其是否会导致新生儿溶血性疾病也暂不清楚。FONSECA等^[38]报道了ABCC1可以保护肾脏上皮细胞免受由骨髓质中高钠环境引起的应激,ABCC1抗原阴性先证者患有肾病,其两个弟弟虽然无明显临床表现但尿液中存在不同数量的草酸钙晶体,因此ABCC1与肾脏疾病之间的关系还需进一步研究。

6 展望 本文对ISBT最新命名的5个血型系统的遗传学研究、临床意义进行了综述,由于这些血型系统抗原阴性个体比较罕见,因此在未来我们可通过人群筛查来评估相应抗原表达的频率,评估该抗原与溶血性输血反应、新生儿溶血病以及相关疾病之间的关系,这不仅有助于临床输血医学的发展,同时对于基因相关疾病研究也具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] STORRY J R, JÖUD M, CHRISTOPHERSEN M K, et al. Homozygosity for a null allele of SMIM1 defines the Vel-negative blood group phenotype[J]. Nat Genet, 2013, 45(5): 537-541.
- [2] STORRY J R, CLAUSEN F B, CASTILHO L, et al. International society of blood transfusion working party on red cell immunogenetics and blood group terminology: report of the Dubai, Copenhagen and Toronto meetings[J]. Vox Sang, 2019, 114(1): 95-102.
- [3] DANIELS G, BALLIF B A, HELIAS V, et al. Lack of the nucleoside transporter ENT1 results in the Augustine-null blood type and ectopic mineralization[J]. Blood, 2015, 125(23): 3651-3654.
- [4] VRIGNAUD C, MIKDAR M, KOEHL B, et al. Alloantibodies directed to the *SLC44A2*/CTL2 transporter define two new red cell antigens and a novel human blood group system[J]. Transfusion, 2019, 59(suppl. s3): 18A.
- [5] NAIR T S, KOZMA KE, HOEFLING NL, et al. Identification and characterization of choline transporter-like protein 2, an inner ear glycoprotein of 68 and 72 kDa that is the target of antibody-induced hearing loss[J]. J Neurosci, 2004, 24(7): 1772-1779.
- [6] KLEINMAN S, CAULFIELD T, CHAN P, et al. Toward an understanding of transfusion-related acute lung injury: statement of a consensus panel[J]. Transfusion, 2004, 44(12): 1774-1789.
- [7] FLESCH B K, WESCHE J, BERTHOLD T, et al. Expression of the CTL2 transcript variants in human peripheral blood cells and human tissues[J]. Transfusion, 2013, 53(12): 3217-3223.
- [8] GREINACHER A, WESCHE J, HAMMER E, et al. Characterization of the human neutrophil alloantigen-3a[J]. Nat Med, 2010, 16(1): 45-48.
- [9] KOMMAREDDI P, NAIR T, KAKARAPARTHI B N, et al. Hair cell loss, spiral ganglion degeneration, and progressive sensorineural hearing loss in mice with targeted deletion of *SLC44A2*/Ct12[J]. J Assoc Res Otolaryngol, 2015, 16(6): 695-712.
- [10] ALLEN B J, MASTRANGELO Michael A, TURE Sara K, et al. The choline transporter *SLC44A2* controls platelet activation and thrombosis by regulating mitochondrial function[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 3479.
- [11] DANIELS G L, SIMARD H, GOLDMAN M, et al. PEL, a 'new' high-frequency red cell surface antigen[J]. Vox Sang, 1996, 70(1): 31-33.

- [12] AZOUZI S,MIKDAR M,HERMAND P,et al. Lack of the multidrug transporter MRP4/ABCC4 defines the PEL-negative blood group and impairs platelet aggregation[J]. *Blood*,2020,135(6):441-448.
- [13] GENOMES PROJECT CONSORTIUM 1 0 0 0,AUTON A,BROOKS L D,et al. A global reference for human genetic variation[J]. *Nature*,2015,526(7571):68-74.
- [14] SCHUETZ J D. “OMICS” reveal the molecular basis of a rare blood group[J]. *Blood*,2020,135(6):396-397.
- [15] LOW F G,SHABIR K,BROWN J E,et al. Roles of ABCC1 and ABCC4 in proliferation and migration of breast cancer cell lines[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(20):7664.
- [16] CHEEPALA S B,PITRE A,FUKUDA Y,et al. The ABCC4 membrane transporter modulates platelet aggregation[J]. *Blood*,2015,126(20):2307-2319.
- [17] DECOUTURE B,DREANO E,BELLEVILLE-ROLLAND T,et al. Impaired platelet activation and cAMP homeostasis in MRP4-deficient mice[J]. *Blood*,2015,126(15):1823-1830.
- [18] TEMPERILLI F,DI FRANCO M,MASSIMI I,et al. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs in-vitro and in-vivo treatment and Multidrug Resistance Protein 4 expression in human platelets[J]. *Vasc Pharmacol*,2016,76:11-17.
- [19] MONTGOMERY W M,NANCE S J,DONNELLY S F,et al. MAM:a “new” high-incidence antigen found on multiple cell lines[J]. *Transfusion*,2000,40(9):1132-1139.
- [20] THORNTON N,CREW V K,TILLEY L,et al. Disruption of the tumour-associated *EMP3* enhances erythroid proliferation and causes the MAM-negative phenotype[J]. *Nat Commun*,2020,11(1):3569.
- [21] BEN-PORATH I,KOZAK C A,BENVENISTY N. Chromosomal mapping of Tmp (Emp1),Xmp (Emp2),and Ymp (EMP3),genes encoding membrane proteins related to Pmp22[J]. *Genomics*,1998,49(3):443-447.
- [22] HAGEN S J. Non-canonical functions of claudin proteins:beyond the regulation of cell-cell adhesions[J]. *Tissue Barriers*,2017,5(2):e1327839.
- [23] AHMAT AMIN M K B,SHIMIZU A,OGITA H. The pivotal roles of the epithelial membrane protein family in cancer invasiveness and metastasis[J]. *Cancers*,2019,11(11):1620.
- [24] DANIELS G L,TALIANO V,KLEIN M T,et al. Emm. A red cell antigen of very high frequency[J]. *Transfusion*,1987,27(4):319-321.
- [25] DUVAL R,NICOLAS G,WILLEMETZ A,et al. Inherited glycosylphosphatidylinositol defects cause the rare Emm-negative blood phenotype and developmental disorders[J]. *Blood*,2021,137(26):3660-3669.
- [26] LANE W J,AESCHLIMANN J,VEGE S,et al. *PIGG* defines the Emm blood group system[J]. *Sci Rep*,2021,11(1):18545.
- [27] KINOSHITA T. Biosynthesis and deficiencies of glycosylphosphatidylinositol[J]. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci*,2014,90(4):130-143.
- [28] MAKRYTHANASIS P,KATO M,ZAKI M S,et al. Pathogenic variants in *PIGG* cause intellectual disability with seizures and hypotonia[J]. *Am J Hum Genet*,2016,98(4):615-626.
- [29] WAGNER M M,VAN DUNNÉ F M,KUIPERS I,et al. Anti-Emm in a pregnant patient—case report[J]. *Vox Sang*,2014,106(4):385-386.
- [30] OEPKES D,VAN KAMP I L,SIMON M J,et al. Clinical value of an antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity assay in the management of Rh D alloimmunization[J]. *Am J Obstet Gynecol*,2001,184(5):1015-1020.
- [31] FUJITA M,MAEDA Y,RA M,et al. GPI glycan remodeling by PGAP5 regulates transport of GPI-anchored proteins from the ER to the Golgi[J]. *Cell*,2009,139(2):352-365.
- [32] PARSAMANESH N,SAFARPOUR H,ETESAM S,et al. Identification and in silico characterization of a novel point mutation within the phosphatidylinositol glycan anchor biosynthesis class G gene in an Iranian family with intellectual disability[J]. *J Mol Neurosci*,2019,69(4):538-545.
- [33] SUGIER H,VRIGNAUD C,DUVAL R,et al. Null allele of ABCC1 encoding the multidrug resistance protein 1 defines a novel human blood group system[J]. *Vox Sang*,2020,115(suppl. s1):40-41.
- [34] COLE S P C. Targeting multidrug resistance protein 1 (MRP1,ABCC1):past,present,and future[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*,2014,54:95-117.
- [35] COLE S P C. Multidrug resistance protein 1 (MRP1,ABCC1),a “multitasking” ATP-binding cassette (ABC) transporter[J]. *J Biol Chem*,2014,289(45):30880-30888.
- [36] LESLIE E M. Arsenic-glutathione conjugate transport by the human multidrug resistance proteins (MRPs/ABCCs)[J]. *J Inorg Biochem*,2012,108:141-149.
- [37] ROBEY R W,PLUCHINO K M,HALL (下转146页)

通过血清学方法进行鉴定则存在局限性,容易误判为O型,进而影响输注效果甚至威胁患者生命,而采用分子生物学方法进行分析可以使检测结果更为精准可靠^[20-21]。本研究将基因分型技术与血型血清学技术相结合,从表型和基因型两个方面对ABO放散型亚型进行血型鉴定,并在对ABO基因第6~7外显子进行常规测序的基础上,增加了对ABO基因第1~5外显子、上游CBF/NF-Y增强子区域、启动子、增强子及内含子1的+5.8 kb红细胞特异性调控元件序列的测序,以便更加精准地进行ABO放散型亚型的鉴定,减少临床输血反应,保障患者用血安全,为输血安全及精准医疗提供科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] STORRY J R, OLSSON M L. The ABO blood group system revisited: A review and update[J]. *Immunohematology*, 2009, 25(2): 48-59.
- [2] 尚红, 王毓三, 申子瑜, 等. 全国临床检验操作规程[M]. 第4版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 118-124.
- [3] CHEN Q, XIAO J, WANG S, et al. ABO sequence analysis in an AB type with anti-B patient[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2014, 127(5): 971-972.
- [4] FENG C, LI H, LIU T, et al. ABO*B.01+c.464A>C represents a missense variation in the ABO gene and encodes a weak B phenotype[J]. *Transfusion*, 2021, 61(9): E59-E61.
- [5] DANIELS G. Human blood groups[M]. 3rd. Oxford, UK: Wiley-Blackwell, 2013: 11-19.
- [6] BENNETT EP, STEFFENSEN R, CLAUSEN H, et al. Genomic cloning of the human histo-blood group ABO locus[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1995, 206(1): 318-325.
- [7] SELTSAM A, HALLENSLEBEN M, KOLLMANN A, et al. The nature of diversity and diversification at the ABO locus[J]. *Blood*, 2003, 102(8): 3035-3042.
- [8] YAMAMOTO F, CLAUSEN H, WHITE T, et al. Molecular genetic basis of the histo-blood group ABO system[J]. *Nature*, 1990, 345(6272): 229-233.
- [9] YAZER MH, OLSSON ML, PALCIC MM. The cis-AB blood group phenotype: fundamental lessons in glycobiology[J]. *Transfus Med Rev*, 2006, 20(3): 207-217.
- [10] OLSSON ML, CHESTER MA. Heterogeneity of the blood group Ax allele: genetic recombination of common alleles can result in the Ax phenotype[J]. *Transfus Med*, 1998, 8(3): 231-238.
- [11] 吕杭军, 洪小珍, 应燕玲, 等. ABO血型新等位基因Ae108的分子生物学研究[J]. *中国输血杂志*, 2011, 24(8): 676-679.
- [12] 章旭, 李剑平. α -1,3-N-乙酰半乳糖胺转移酶基因467C>T和804insG变异导致Ae1亚型[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2016, 33(4): 526-529.
- [13] 龚淞颂, 邹伟, 李芳, 等. B糖基转移酶p.R168W突变导致Be1亚型的分子机制研究[J]. *中国输血杂志*, 2017, 30(7): 679-681.
- [14] HOSSEINI-MAAF B, IRSHAID NM, HELLBERG A, et al. New and unusual O alleles at the ABO locus are implicated in unexpected blood group phenotypes[J]. *Transfusion*, 2005, 45(1): 70-81.
- [15] 骆宏, 张润青, 魏玲, 等. 中国南方汉族人群特殊O型个体的血清学特征和分子背景[J]. *中山大学学报(医学版)*, 2018, 39(4): 521-525.
- [16] 骆宏, 张润青, 廖志坚, 等. 特殊A/O基因型与O表型的关系[J]. *中华医学遗传学杂志*, 2019, 36(3): 275-277.
- [17] OLSSON ML, MICHALEWSKA B, HELLBERG A, et al. A clue to the basis of allelic enhancement: occurrence of the Ax subgroup in the offspring of blood group O parents[J]. *Transfus Med*, 2005, 15(5): 435-442.
- [18] CHO D, SHIN MG, YAZER MH, et al. The genetic and phenotypic basis of blood group A subtypes in Koreans[J]. *Transfus Med*, 2005, 15(4): 329-334.
- [19] 兰炯采, 陈静娴, 马红丽, 等. 推荐ABO疑难血型三步分析法[J]. *中国输血杂志*, 2010, 23(3): 165-168.
- [20] 孙嘉峰, 杨晓俊, 张爱, 等. 3例B亚型标本的血清学表型和基因型结果分析[J]. *临床输血与检验*, 2020, 22(5): 506-509.
- [21] 何卫社, 梁俊杰, 刘建岭, 等. 罕见患者AEL04亚型1例及其家系调查[J]. *临床输血与检验*, 2017, 19(2): 203-204.

(收稿日期: 2021-09-30)

(本文编辑: 陈洋)

(上接141页) M D, et al. Revisiting the role of ABC transporters in multidrug-resistant cancer[J]. *Nat Rev Cancer*, 2018, 18(7): 452-464.

- [38] FONSECA L M, ALVAREZ A B, RODRIGUES R C, et al. ABCC1 is related to the protection of the

distal nephron against hyperosmolality and high sodium environment: possible implications for cancer chemotherapy[J]. *PLoS One*, 2013, 8(6): e68049.

(收稿日期: 2021-09-29)

(本文编辑: 陈洋)