

# 健康献血者血浆可溶性糖蛋白 A(GPA) 在抗 -M 与抗 -“Mia” 抗体阳性及阴性中表达差异的分析研究

梁延连<sup>1</sup>, 邬林枫<sup>1</sup>, 唐雄驰<sup>2</sup>, 苏宇清<sup>1</sup>, 吴凡<sup>1</sup>, 梁爽<sup>1</sup>, 孙丽艳<sup>1</sup> (1. 深圳市血液中心输血医学研究所, 广东深圳 518040; 2. 广西平南县人民医院, 广西平南 537300)

**摘要:** 目的 分析健康献血者血浆中可溶性糖蛋白 A (glycoprotein A, GPA) 表达量与抗 -M 及抗 -“Mia” 抗体的相关性。方法 收集 2022 年 2 月 9 日 ~ 2023 年 2 月 15 日的健康献血者血浆: 不规则抗体阴性的 NN 型 (I 组,  $n=118$ ) 与 MM 型 (II 组,  $n=51$ ), 抗 -M 抗体阳性的 NN 型 (III 组,  $n=145$ ) 与抗 -“Mia” 抗体阳性的随机型 (IV 组,  $n=87$ ), 分别检测 4 组人不同个体血浆中 GPA 的含量,  $t$  检验分析 GPA 表达量的差异。结果 I 组、II 组、III 组和 IV 组血浆中 GPA 平均含量分别为:  $9.941 \pm 0.252$ ,  $10.97 \pm 0.256$ ,  $5.139 \pm 0.129$  和  $4.28 \pm 0.139$  ng/ml。I 组与 II 组的 GPA 平均含量较高, III 组与 IV 组的 GPA 平均含量较低, 显示 GPA 平均含量在不规则抗体阴性 (I 组与 II 组) 的血浆中较高, 在抗 -M 与抗 -“Mia” 抗体阳性 (III 与 IV 组) 的血浆中较低, 差异具有统计学意义 (均  $P < 0.01$ )。结论 含有抗 -M 与抗 -“Mia” 抗体的健康献血者血浆中 GPA 含量明显低于抗体阴性的群体。该研究结果为深入探讨血浆中 GPA 是否有中和抗 -M 与抗 -“Mia” 抗体的能力, 提高疾病诊断与安全输血打下基础。

**关键词:** 糖蛋白 A; MN 血型; 抗 -M 抗体; 抗 -“Mia” 抗体

中图分类号: R457.1 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2024) 01-123-03

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2024.01.022

## Analysis of the Difference of Plasma Soluble Glycoprotein A Expression in Positive and Negative Anti-M and Anti-“Mia” Levels in Healthy Blood Donors

LIANG Yanlian<sup>1</sup>, WU Linfeng<sup>1</sup>, TANG Xiongchi<sup>2</sup>, SU Yuqing<sup>1</sup>, WU Fan<sup>1</sup>, LIANG Shuang<sup>1</sup>, SUN Liyan<sup>1</sup> (1. Institute of Transfusion Medicine, Shenzhen Blood Center, Guangdong Shenzhen 518040, China; 2. Pinnan County People's Hospital, Guangxi Pingnan 537300, China)

**Abstract: Objective** To analyze the correlation between the expression of soluble glycoprotein A (GPA) in plasma of healthy blood donors and anti-M and anti-“Mia” antibodies. **Methods** Plasma from healthy donors from February 9, 2022 to February 15, 2023 was collected: irregular antibody-negative NN type (group I,  $n=118$ ) and MM type (group II,  $n=51$ ), anti-M antibody positive NN type (group III,  $n=145$ ) and anti-“Mia” antibody positive companion type (group IV,  $n=87$ ), the GPA content in plasma of different individuals in 4 groups was detected, and the difference in GPA expression was analyzed by  $t$ -test. **Results** The average plasma GPA contents in groups I, II, III and IV were  $9.941 \pm 0.252$ ,  $10.97 \pm 0.256$ ,  $5.139 \pm 0.129$  and  $4.28 \pm 0.139$  ng/ml, respectively. The average GPA content of groups I and II was higher, and the average GPA content of groups III and IV was lower, and the differences were statistically significant (all  $P < 0.01$ ). **Conclusion** The GPA content in plasma of healthy donors with anti-M and anti-“Mia” antibodies was significantly lower than that of the antibody-negative group. The results of this study lay a foundation for further investigation of whether GPA in plasma has the ability to neutralize anti-M and anti-“Mia” antibodies, improve disease diagnosis and safe blood transfusion.

**Keywords:** glycoprotein A; MN blood group; anti-M antibody; anti-“Mia” antibody

MNS 血型是由 50 种抗原组成的血型系统, 其抗原的多态性主要由于同源基因 GYP A/GYP B/GYP E 的重组、突变、融合、交换等<sup>[1]</sup>。MNS 血型系统的抗原由血型糖蛋白 A (glycoprotein A, GPA) 与糖蛋白 B (glycoprotein B, GPB) 的相关

基因 GYP A 与 GYP B 编码。不仅输血、妊娠或器官移植等免疫会导致机体产生红细胞不规则抗体, 一些慢性炎症或烧伤患者血浆中也常常检出抗 -M 抗体, 有证据表明儿童受细菌感染后被刺激产生抗 -M 抗体<sup>[2]</sup>, 这类抗体被称为“天然抗体”, 在

**基金项目:** 深圳市医学三名工程 (项目编号: SZSM201811092); 输血技术学; 深圳市医学重点学科 (SZXK070): 免疫遗传与输血技术学; 广西医疗卫生重点培育学科 [平南县人民医院消化内科 2022 (二): 10]; 消化系统疾病诊疗。

**作者简介:** 梁延连 (1973-), 女, 主任技师, 研究方向: 红细胞血型免疫学与临床输血研究, E-mail: lianyan@126.com。

邬林枫 (1986-), 男, 主管技师, 研究方向: 输血学检验, E-mail: 717083541@qq.com。并列第一作者。

**通讯作者:** 孙丽艳 (1994-), 女, 博士生, 研究方向: 输血医学, E-mail: Suliyang@hotmail.com。

低于 37℃ 条件下反应增强。抗 -M 与抗 -“Mia” 是 MNS 血型系统中最常见的抗体, 有时表现出剂量效应, 约 78% 的抗 -M 抗体为 IgM/IgG 混合型, 可与 M 抗原阳性细胞发生凝集<sup>[3]</sup>, 不仅会影响 ABO 血型鉴定, 还会导致交叉配血困难与溶血性输血反应。据研究, GPA/ GPB 蛋白异构体可以直接影响 MNS 血型抗原在红细胞上的表达量<sup>[4]</sup>。为了解不同个体血浆中可溶性 GPA 表达量的差异, 本文检测了健康献血者血浆中的 GPA 含量, 同时分析不规则抗体阴性个体与血浆中存在抗 -M 与抗 -“Mia” 抗体阳性个体间的差异, 报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 研究对象 样本来源于 2022 年 2 月 9 日 ~ 2023 年 2 月 15 日的深圳市血液中心健康献血者血浆, 常规筛查了 111 156 例血浆的不规则抗体, 对阳性样本进一步鉴定抗体特异性。从中随机选择不规则抗体阴性的 NN 型 (I 组,  $n=118$ ) 与 MM 型 (II 组,  $n=51$ ), 血浆中存在抗 -M 抗体的 NN 型 (III 组,  $n=145$ ) 与抗 -“Mia” 抗体的随机型 (IV 组,  $n=87$ ), 分别测定血浆中 GPA 的含量。所有样本收集均经过书面知情同意并通过血液中心伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 SUNRISE 温控酶标仪, Diamed-ID 12SI 卡式离心机, Diamed-ID 37SI 孵育器, 日本 KA-2200 血型血清学离心机。人糖蛋白 A (GPA) ELISA 检测试剂盒 (上海纪宁实业有限公司, 批号: 202302); 单克隆鼠抗人血清 anit-M (IgM 性质, 批号: 20210608, 20220725), anit-N (IgM 性质, 批号: 20210407) 由上海血液生物科技有限责任公司提供; 不规则抗体筛查细胞 (广东营安生物科技有限公司, 批号: 20220901); 不规则抗体鉴定谱细胞 Makropanel 16 (广东营安生物科技有限公司, 批号: 20220906); Liss/ 抗人球蛋白卡 (BIO-RAD, 批号: 50531.66.14); 样本稀释液 (瑞士 Diamed 公司, 批号: 057610005)。

## 1.3 方法

1.3.1 抗体与血型鉴定: 使用筛查细胞对健康献血者 111 156 例的血浆进行不规则抗体筛查, 应用谱细胞对抗体筛查阳性的血浆进行抗体特异性鉴定, 严格按照抗 -M 与抗 -N 试剂说明书操作规程检测 MN 抗原的表现型。

1.3.2 样本分组: 不规则抗体阴性的 NN 型与 MM 型作为对照组, 血浆中存在抗 -M 抗体的 NN 型与抗 -“Mia” 抗体的随机型作为研究对象组。

1.3.3 GPA 含量测定: 采用 ELISA 方法检测对照组与研究对象组不同个体血浆中 GPA 的含量, 具体操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学分析 采用 Graphpad Prism 7.0 软件对相关数据进行统计学分析, 计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 组间比较采用独立样本  $t$  检验。

## 2 结果

2.1 不规则抗体频率 检出 111 156 例的健康献血者血浆不规则抗体阳性共 716 例, 阳性率 0.64% (716/111 156)。其中抗 -M 抗体阳性 145 例, 占不规则抗体阳性群体的 20.25% (145/716); 抗 -“Mia” 抗体阳性 87 例, 占不规则抗体阳性群体的 12.15% (87/716)。

2.2 血浆 GPA 平均含量 I 组, II 组, III 组和 IV 组血浆中 GPA 平均含量依次为:  $9.941 \pm 0.252$ ,  $10.970 \pm 0.256$ ,  $5.139 \pm 0.129$  和  $4.28 \pm 0.139$  ng/ml, 两两比较, 差异具有统计学意义 ( $t=2.82, 18.65, 19.00, 21.80, 23.01$ , 均  $P<0.001$ )。I 组与 II 组的 GPA 平均含量较高, III 组与 IV 组的 GPA 平均含量较低, 显示 GPA 平均含量在不规则抗体阴性 (I 组与 II 组) 的血浆中较高, 在抗 -M 与抗 -“Mia” 抗体阳性 (III 与 IV 组) 的血浆中较低, 差异具有统计学意义 (均  $P<0.01$ )。

## 3 讨论

人类血型糖蛋白 (GP) 主要包括 GPA, GPB, GPC, GPD。GPA 不仅在人类红细胞表面具有高表达的特征, 还表达于人体的肝、肾、血管等器官与组织液 (细胞膜、细胞外液、血浆以及黏液) 中<sup>[5]</sup>。GPA 位于红细胞膜外的糖基化 N 端, 具有 MN 血型特异性的位置是外来生物: 流感病毒、恶性疟原虫、大肠埃希菌、甲型肝炎病毒 (HAV) 或寄生虫的受体<sup>[6]</sup>。GPA/GPB 相关基因 GYP A/GYP B 家族的核苷酸具有多态性, GYP A 与 GYP B 基因发生交换或融合会导致 GPA/GPB 融合为 GP(A-B-A), GP(B-A-B) 等多态性表达, 而这种基因的转换和平衡的选择正是一些病毒与寄生虫感染的受体<sup>[7]</sup>, 因此, 人类群体中有部分人即使无输血, 妊娠或器官移植的免疫过程也产生了抗 -M 或抗 -“Mia” 抗体。GP 除了携带 MNSs 血型系统的抗原和 Gerbich 血型抗原决定簇参加机体的免疫反应外, 还可以参与宿主 - 病原体的相互作用。GPA 相关基因 GYP A 的异常表达与 2 型糖尿病或某些心血管疾病和癌肿相关, 同时, GYP A 基因座的突变频率已作为大规模筛查环境放射与化学污染的常规手段<sup>[4]</sup>。还有研究发现, GPA/GPB 在血浆中的浓度与高脂血症、动脉粥样硬化相关, 也是亚临床慢性炎症、慢性感染、糖尿病和自身免疫性疾病的生物标志物<sup>[8-9]</sup>。GPA 作为一种可溶性糖蛋白, 它在人体血浆中的表达量与蛋白结构的变异与人类疾病息息相关, 是疾病诊断的重要标记。

糖蛋白 A (GPA) 在人体血液中不仅可以维持红细胞膜表面的负电荷恒定, 防止红细胞聚集, 还可以间接影响红细胞膜的柔性和机械稳定性。另外, GPA 的糖蛋白残基与病毒或细菌结合后会引发红细胞膜刚性结构的变化, 在受免疫致敏后有可能产生相关抗原的同种抗体。GPA 表达的 M 或 “Mia” 抗原的多态性影响抗 -M 抗体或抗 - “Mia” 抗体的特异性, 而 GPA 由相关基因 GYP A 编码, GYP A 基因序列中碱基的变异可以把 MN 血型基因区分为 M101, M102, M103, M201, M202, N101, N102, N103, N104 和 N201<sup>[10]</sup> 型, 由此不同个体血浆中的抗 -M 抗体与异体间 M 抗原阳性者反应时出现剂量效应或强弱不同的凝集现象。另有研究者认为, 抗 - “Mia” 抗体的产生与 HLA-DRB1\*0901 基因密切相关, HLA-DR4, DR7 和 DR9 分子可能比其他表型更积极地参与激活抗 MiIII 糖蛋白的免疫应答, HLA-DR9 个体的细胞可能比其它表型的细胞更有效地诱导抗 - “Mia” 抗体的产生<sup>[11-12]</sup>。为探讨 GPA 在人体血浆中的表达量与抗 -M 与抗 - “Mia” 抗体之间的相关性, 本文通过筛查 111 156 例健康献血者血浆的不规则抗体, 发现红细胞血型不规则抗体阳性有 716 例 (0.64%), 除了 Rh 血型系统的抗 -E 与抗 -c 抗体以外, 主要以 MNS 血型系统的抗 -M 或抗 - “Mia” 抗体为主, 其中抗 -M 抗体在不规则抗体阳性群体中占 20.25%, 抗 - “Mia” 抗体占 12.15%。GPA 在不同个体血浆中的表达量存在差异: 在不规则抗体阴性个体血浆中较高, 在抗 -M 与抗 - “Mia” 抗体阳性的个体血浆中较低, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。这种差异是否提示了血浆中的抗 -M 与抗 - “Mia” 抗体具有中和可溶性 GPA 的能力? 需进一步跟踪监测产生抗 -M 与抗 - “Mia” 抗体前及抗体消失后血浆中 GPA 表达量的变化来验证。

综上, 对健康献血者不同个体血浆中 GPA 的定量检测, 发现 GPA 表达量与血浆中存在抗 -M 及抗 - “Mia” 抗体的群体具有相关性, 存在统计学差异。该研究结果为深入探讨血浆中 GPA 与机体被外界环境或同种抗原免疫后产生抗 -M 及抗 - “Mia” 抗体的机理提供数据参考, 为提高疾病诊断与安全输血打下基础。

#### 参考文献:

- [1] 魏亚明, 吕毅. 基础输血学: 其他血型系统 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 148-183.  
WEI Yaming, LÜ Yi. Basic Blood Transfusion: other blood group systems. [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2011: 148-183.
- [2] 杰夫·丹尼尔. 人类血型: MNS 血型系统 [M]. 朱自严 (译). 北京: 科学出版社, 2007: 117-207.  
DANIEL J. Human Blood Group: MNS blood group system [M]. ZHU Ziyang (Translated). Beijing: Science Press, 2007: 117-207.
- [3] 张良子, 左琴琴, 吴大洲, 等. 1 例骨髓增生异常综合征多次受血患者血清存在抗 -M、抗 -cE 和抗 -Jkb 抗体的鉴定及配血输血策略 [J]. 现代检验医学杂志, 2023, 38(1): 195-198.  
ZHANG Liangzi, ZUO Qinqin, WU Dazhou, et al. Identification and transfusion strategy of anti-M, anti-cE and anti-Jkb antibodies in the serum of patients with myelodysplastic syndromes receiving multiple blood transfusions [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(1): 195-198.
- [4] 梁延连, 梁燕文, 林建梭, 等. GYP mRNA 基因可变剪接对 MNS 血型糖蛋白 GPA 和 GPB 在细胞表面定位的影响 [J]. 中国输血杂志, 2022, 35 (9): 887-891.  
LIANG Yanlian, LIANG Yanwen, LIN Jiansuo, et al. Effects of GYP mRNA alternative splicing on cell surface localization of MNS blood group glycoprotein GPA and GPB [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2022, 35(9): 887-891.
- [5] WANG Xianding, ZHANG Fan, JIANG Yamei, et al. Highly individual- and tissue-specific expression of glycoprotein group A and B blood antigens in the human kidney and liver [J]. BMC Immunology, 2021, 22(1): 66.
- [6] WANAGURU M, CROSNIER C, JOHNSON S, et al. Biochemical analysis of the *Plasmodium falciparum* erythrocyte-binding antigen-175 (EBA175)-glycophorin-A interaction: implications for vaccine design. [J]. Journal of Biological Chemistry, 2013, 288(45): 32106-32117.
- [7] KO W Y, KAERCHER K A, GIOMBINI E, et al. Effects of natural selection and gene conversion on the evolution of human glycophorins coding for MNS blood polymorphisms in malaria-endemic African populations [J]. American Journal of Human Genetics, 2011, 88(6): 741-754.
- [8] FUERTES-MARTÍN R, MONCAYO S, INSENSER M, et al. Glycoprotein A and B height-to-width ratios as obesity-independent novel biomarkers of low-grade chronic inflammation in women with polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. Journal of Proteome Research, 2019, 18(11): 4038-4045.
- [9] MALO A I, GIRONA J, IBARRETXE D, et al. Serum glycoproteins A and B assessed by 1H-NMR in familial hypercholesterolemia [J]. Atherosclerosis, 2021, 330: 1-7.
- [10] 梁延连, 苏宇清, 吴凡, 等. 中国人群 MN 血型中 M, N 等位基因多态性的研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(2): 537-540.  
LIANG Yanlian, SU Yuqing, WU Fan, et al. Polymorphism of M, N allele in MN blood group of Chinese population [J]. Journal of Experimental Hematology, 2015, 23(2): 537-540.
- [11] HUNG S Y, HUNG I H, YANG Yuting, et al. Frequent transfusion and specific HLA - DRB1 alleles correlate independently with Miltenberger blood group alloimmunization in dialysis patients [J]. HLA, 2020, 96(2): 186-191.
- [12] CHU C C, HO H T, LEE H L, et al. Anti-“Mi(a)” immunization is associated with HLA-DRB1\*0901 [J]. Transfusion, 2009, 49(3): 472-478.

收稿日期: 2023-04-17

修回日期: 2023-08-11