

• 综述 •

P₁PK 血型抗原研究进展

范春丽¹ 李树中^{1△} 李中华² 叶小英¹ 胡氏月¹ 李凌波³

[关键词] 糖苷类抗原;副糖苷类抗原;冷抗体;自身抗体

doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2018.08.022

[中图分类号] R392.11 [文献标志码] A

Research progress of P₁PK blood group antigen

Summary In 2011,ISBT reconfirmed three antigens of P₁PK blood group system and clarified the definition of related antigens. The three antigens of the P₁PK blood group belong to the paracosides and glycoside antigens respectively. It has been confirmed that the gene of this antigen is A4GALT and three exon sequences,and the encoded glycosyltransferase has 353 amino acids. Gene mutations occur mainly in exon 3. P₁PK blood group antibodies have cold antibodies and autoantibodies,individual can cause hemolysis. This article describes the latest research progress of the antigen,and clarifies some past mistakes and vague understanding.

Key words glycoside antigen;paranoside antigen;cold antibody;autoantibody

2011 年国际输血协会(ISBT)确认了 P₁PK 血型系统的抗原,命名为 P₁PK,编号 003。确认该系统有 3 个抗原,分别是:P₁,PK,NOR。本文就目前对 P₁PK 系统抗原的研究进展,做一扼要概述。并针对“P 抗原”在多年的研究过程中,经历的定义不清、命名混乱,以及目前还存在的一些模糊认识、错

误观点加以澄清^[1-4]。

1 抗原的发展

P₁ 血型抗原,最早是 Landsteier 研究发现的,之后 10 多年中陆续发现了许多相关的抗原。经过长时间的研究,经历了一个漫长的定义上的混乱期(表 1)。

表 1 相关抗原的命名及发展

×10⁹/L

抗原最初名	抗原曾用名(属于何类型)	抗原现在名(属何类抗原)
Tj ^a →	P→GLOB1(集合 209001)→ P ₁ PK ₃ (系统,003003)→	GLOB1(系统抗原,028001)
PK→	GLOB2(集合,209002)→	P ₁ PK ₂ (系统抗原,PK,003002)
LKE→	GLOB3(集合,209003)→	LKE(集合抗原,209003)
LKE→	GLOB3(集合,209003)→	LKE(集合抗原,209003)
PX2→	GLOB4(集合,209004)→	PX2(集合抗原,209004)
P→	P ₁ →	P ₁ PK ₁ (系统抗原,P ₁ ,003001)
NOR→		P ₁ PK ₄ (系统抗原,NOR,003004)

Landsteier 等(1927 年)用人红细胞注射给家兔,从家兔血清中得到了一种免疫抗体。这种抗体能与大多数红细胞反应的被称为 P+表型,这种红细胞上抗原被命名为 P 抗原(之前已经发现了 M,N 抗原,字母 O 用于 ABO。所以排字母顺序是 P)。还有少部分人红细胞不与这种抗体反应的,被称为 P-表型,也就是说这一少部分人红细胞上没有 P 抗原。

Sanger 等(1955 年)发现了一种相关的表型 Tj(a-),命名为 P-。在 Tj(a+)表型红细胞上有 Tj^a抗原,也被命名为 P 抗原。这就与 Landsteier 发现的 P 抗原和表型的命名重叠了。为了区分两者,红细胞命名委员会进行了更新命名;将 Landsteier 发现的 P+表型重新命名为 P₁表型,将相应的 P 抗原重新命名为 P₁抗原,将 P-表型命名为 P₂表型。将 Sanger 发现的 Tj(a-)表型,仍然命名为 P-表型。将其相应的 Tj(a+)表型仍命名为 P+表型,将其对应的 Tj^a抗原仍命名为 P 抗原,之后这个抗原又被命名为 GLOB1,编号 209001。

Matson 等(1959 年)发现了一种相关的 PK 抗原。当时命名为 PK、GLOB2,编号 209002。

¹ 江苏大学附属昆山第一人民医院(江苏昆山,215300)

² 黑龙江省牡丹江市第二人民医院

³ 长春博讯生物技术有限责任公司

△ 审校者

通信作者:李树中;E-mail:kssyylsz@sina.cn

Tippett 等(1965 年)发现了相关的 LKE 抗原,当时命名为 LKE、GLOB3,编号 209003。

之后又发现了相关抗原 PX2,当时命名为 PX2、GLOB4,编号 209004。到 1982 年,在美国又发现相关的 NOR 抗原,抗原名是先证者美国人 Norton 的名字,这个抗原当时没有给予编号。

2 抗原的最终命名

鉴于上述相关抗原命名的混乱,2011 年 ISBT 将所有相关抗原进行了重新命名,如下:

将 Landsteiner 发现的 P 抗原(即后改为 P_1 的抗原),划入 P_1 PK 系统,重新命名为 P_1 ,系统名 P_1 PK₁,编号 003001。

将 Sanger 发现的 Tj^a (后来改名 P 抗原的),划入 Globoside 系统,抗原命名为 GLOB1,编号 028001。原来的名称 P 抗原弃去不用。

这个 GLOB1、编号 028001 的抗原,曾经在 2008 年被划入 P 血型系统,当时命名为 P_1 PK₃、003003,后来发现这个抗原有不不同的基因位点,不属于 P_1 PK 系统,是独立的系统抗原,所以删除了该抗原的 P_1 PK 系统命名,另外确立为新的 GLOB 系统抗原,重新命名为 GLOB1、028001。

将 Matson 发现的 PK 抗原,当时编号为 209002 的抗原,重新划入 P_1 PK 系统,重新命名为 P_1 PK₂,编号 003002。

将 1982 年发现的 NOR 抗原(当时没有编号),重新编入 P_1 PK 系统,命名为 NOR1、系统命名为 P_1 PK₄、003004。

将 PX2 抗原、GLOB4、209004,仍然划入“集合抗原”,所命名编号不动。

将 Tippett 发现的 LKE 抗原、GLOB3 抗原、209003,仍然划入“集合抗原”,所命名编号不动。

P_1 PK(P_1)属于糖苷类抗原,其他一些糖苷类抗原仍维持另外的研究结果。如 Forssman 抗原曾经命名 Apae,现在独立为系统抗原 FORS1、031001。如 Globo-H,仍然属于与 H 系统有关的抗原。

上述抗原变更后,归属如下:

划入 P 血型系统(003, P_1 PK 系统)的: P_1 PK₁, 003001;是原来的 P 或 P_1 。 P_1 PK₂, 003002;是原来

的 PK 或 GLOB2。 P_1 PK₄, 003004;是原来的 NOR 当时未编号。划入 GLOB 血型系统(028, GLOB 系统)的:GLOB1, 028001;是原来的 Tj^a 或 P,或者后来的 P_1 PK₃。

仍然留在“集合”中未变动的:LKE, 20003, 是原来的 GLOB3;和 PX2, 209004, 原来的 GLOB4^[2,5-7]。

3 基因

P_1 PK 抗原的基因位点在 22 号染色体长臂 1 区 3 带 2 亚带, 22q^{13.2}。

基因名:A4GALT,基因编号:53947,基因库注册号:NM_017436.4(mRNA)

NG_007495.1(DNA)。基因长 31 690 bp。有 3 个外显子,3 个外显子长 2 156 bp。其中外显子 1 长 73 bp,外显子 2 长 140 bp,外显子 3 长 1 876 bp。内含子 1 长 21 566 bp,内含子 2 长 1 494 bp。转录从基因的 5 432 bp 处开始(图 1)。

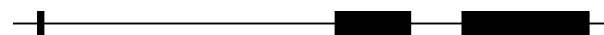


图 1 A4GALT 基因的外显子

红系与非红系的 A4GALT 基因转录的 mRNA,在剪切时有 2 个不同版本,差别在外显子 2 (外显子 2a 是红系的 mRNA),主要在于剪切酶的不同。2 个基因的产物都是相同的转移酶,2 个酶可能在氨基酸序列上有个别差异但作用底物都是半乳糖(图 2)。

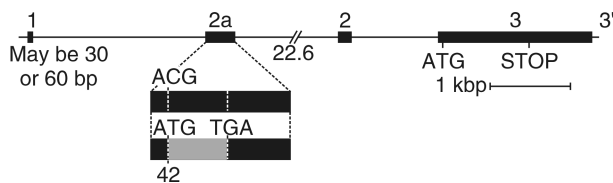


图 2 A4GALT 基因

本文主要叙述的是红系的 A4GALT 基因和其产物。

A4GALT 基因的产物是:4- α -半乳糖基转移酶,由 353 个氨基酸组成(表 2)。

表 2 1,4- α -半乳糖基转移酶的氨基酸序列

MSKPPDLLLR	LLRGAPRQRV	CTLFIIIGFKF	TFFVSIIVIW	HVVGEPEKEG	50
QLYNLP AEIP	CPTLTPTTP	SHGPTPGNIF	FLETSDRTNP	NFLFMCSVES	100
AARTHPESHV	LVL MKGLPGG	NASLPRHLGI	SLLSCFPNVQ	MLPLDLREL F	150
RDTPLADWYA	AVQGRWEPYL	LPVLS DASRI	ALMWKFGGIY	LD TDFIVLKN	200
LRNL TNVLGT	QSRVVLNGAF	LAFERRHEFM	ALCMRDFVDH	YNGWIWGHQG	250
PQLLTRVFKK	WCSIRSLAES	RACRGVTTL P	PEAFYPIPWQ	DWK KYFEDIN	300
PEELPRLLSA	TYAVHVWNKK	SQGTRFEATS	RALLAQLHAR	YCPTTHEAMK	350
MYL					353

A4GALT 基因有多态性,有 52 个等位基因(等位基因请参见 NCBI 网站),大多数的基因突变,都发生在外显子 3 上^[8-14]。

4 分子生物学

A4GALT 基因的产物是 4- α -半乳糖基转移酶(α -4Gal-T),负责将底物半乳糖转移到副糖苷类糖

链末端或糖苷类糖链末端,形成副糖苷脂抗原(P₁)和糖苷脂抗原(PK、NOR)。P₁PK 系统的 3 个抗原(P₁、PK、NOR)都是由 α -4Gal-T 酶转移生成的,但合成的途径不同,作用于不同性质的糖链之上(图 3)。

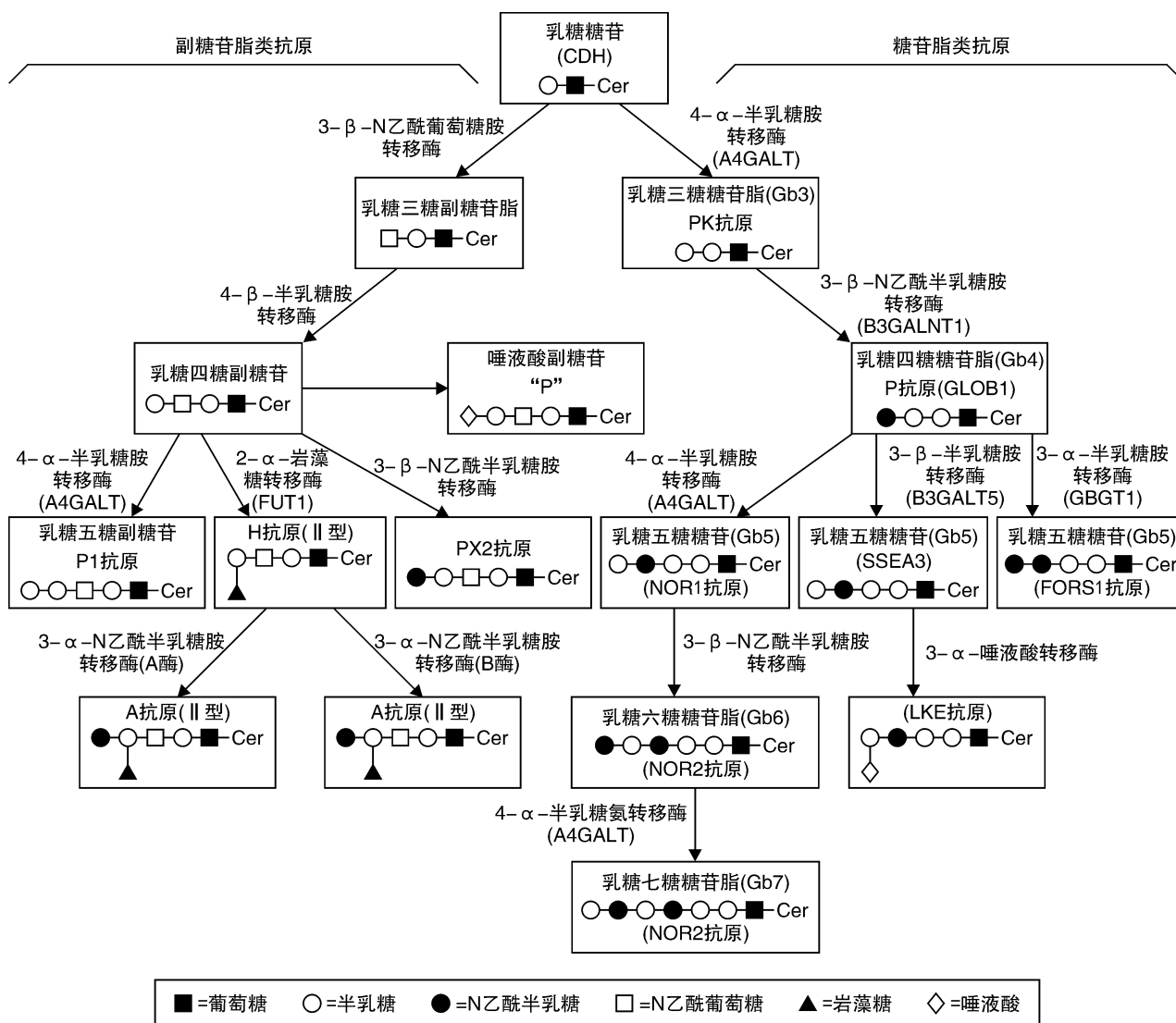


图 3 糖苷类抗原糖苷类与副抗原合成

P₁PK 系统的抗原合成过程如下:①P₁ 抗原的合成是副糖苷类抗原。在乳糖四糖副糖苷的基础上,由 4- α -半乳糖转移酶转移一分子半乳糖到糖链末端,生成 P₁ 抗原。②PK 抗原的合成是糖苷类抗原。直接在乳糖糖苷的基础上,由 4- α -半乳糖转移酶转移一分子半乳糖到糖链末端,生成 Pk 抗原。③NOR1 抗原的合成是糖苷类抗原。是在 Pk 抗原基础上,由 4- α -半乳糖转移酶转移一分子半乳糖到糖链末端,形成 NOR1 抗原。

糖苷类抗原与副糖苷类抗原的“前体”,都是“乳糖苷”,也称“乳糖神酰胺”。2 类抗原的结构区别在糖链上第 3 单糖的不同。糖苷类(Gb)抗原第

3 单糖是半乳糖,副糖苷类抗原的第 3 单糖是 N-乙酰半乳糖^[15-19]。

5 免疫血型学

5.1 P₁ 抗原

系统命名 P₁PK₁,系统编号:003001。1927 年 Landsteiner 发现当时命名为 P,后来改名为 P₁,2012 年 ISBT 重新命名为 P₁,P₁PK₁,003001。P₁ 抗原是多态性抗原(图 4)。

5.1.1 抗原分布 高加索人 79%,黑人 94%,柬埔寨/越南 20%。

5.1.2 抗原化学性质 无花果酶/木瓜酶:不破坏抗原(明显增强抗原性);胰酶:不破坏抗原(明显增

强抗原性); α -糜酶: 不破坏抗原(明显增强抗原性); 链霉蛋白酶: 不破坏抗原; 唾液酸酶: 不破坏抗原; 200nmDTT: 不破坏抗原; 酸: 不破坏抗原。

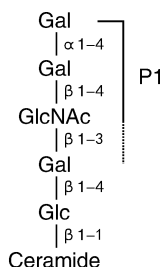


图 4 P₁ PK₁ 抗原

5.1.3 抗 P₁ 主要是 IgE, 少数有 IgG 的, 大多是自然存在的, 很少有免疫产生的, 是常见的抗体。抗 P₁ 是比较常见的冷抗体, 一般在 25℃ 不反应但可能影响血型鉴定和交叉配血。也有个别的抗 P₁ 在 37℃ 反应, 能引起自身免疫性溶血, 阵发性冷性血红蛋白尿, HDN。也有报导输血引起迟发型溶血反应的个例。用放射标记 P₁ 红细胞, 发现约 50% 红细胞会与 37℃ 有活性的抗 P₁ 反应。用单核细胞单层试验(MMA)发现, 单核细胞吞噬试验中, 发现约有 22% 的抗 P₁ 一致敏红细胞复合体可引起溶血。

单克隆的抗 P₁ 试剂是用鸽子蛋清免疫小鼠而获得。但也有用 P₁ 三糖糖苷蛋白(Gb3)免疫小鼠而获得。在兔子和一些动物血清中存在天然的抗 P₁。此外, 包虫囊液、蚯蚓、斑鸠卵蛋清、福氏佐剂家兔都会得到高效价抗 P₁。感染包虫后会免疫, 产生抗 P₁。在蠕虫(绦虫、吸虫)盐水研磨物中, 都有 P₁ 活性物质(P₁ 抗原物质)。

5.2 PK 抗原

5.2.1 系统命名 P₁ PK₂, 系统编号: 003002。1959 年发现, 抗原名中的 P 是抗原系统名, K 是先证者名, 2012 年划入 P₁ PK 系统, PK 是高频抗原, 所有人分布都 >99% (图 5)。抗原曾用名: 红细胞三糖-N-酰脂鞘氨醇(CTH)、球状三磷酸腺苷(Gb3Cer)。PK 抗原属于“膜分化抗原”, 是 CD77。CD77 是人体免疫机制参与者。不仅表达在红细胞膜上, 还表达的淋巴细胞、单核细胞、粒细胞、血小板、组织细胞以及恶性肿瘤细胞。PK 抗原(CD77)与淋巴细胞限制性抗原(CD19)结合后, 使 B 细胞凋亡。

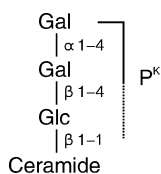


图 5 P₁ PK₂ 抗原

5.2.2 抗原化学性质 无花果酶/木瓜酶: 不破坏抗原性(明显增强抗原性); 胰酶: 不破坏抗原(明显增强抗原性); α -糜酶: 不破坏抗原(明显增强抗原性); 链霉蛋白酶: 不破坏抗原(明显增强抗原性); 唾液酸酶: 不破坏抗原; 200 nm DTT: 不破坏抗原; 酸: 不破坏抗原。

5.2.3 抗 PK 有 IgM, 也有 IgG。有免疫产生的, 也有自身抗体。能引起输血性溶血、自溶贫, 也有可能引起 HDN。一些肝性胆汁性肝硬化病人血浆中可存在自身性抗 PK。抗 PK 是引起孕妇自然流产的特征性抗体。单克隆抗 PK 是用伯基特(Buykitt)淋巴瘤细胞的细胞, 免疫注射给大鼠, 取大鼠的血清而获得。还有用人工合成的 PK 三糖(Gb3) + 免疫福氏佐剂, 注射给小鼠, 获得免疫抗 PK。

5.3 NOR1 抗原

5.3.1 系统命名 P₁ PK₄, 系统编号: 003004。1982 年发现, 抗原名取自先证者 Norton。2012 年 ISBT 确认是 P₁ PK 系统抗原, NOR1 是低频抗原(图 6)。实际上这个抗原的合成过程见图 7。抗 NOR 只有 IgM 类抗体的报告, 没有关于输血溶血和 HDN 的报告。

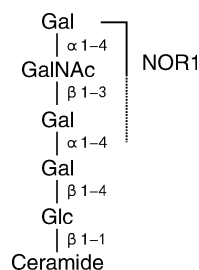


图 6 NOR1 抗原

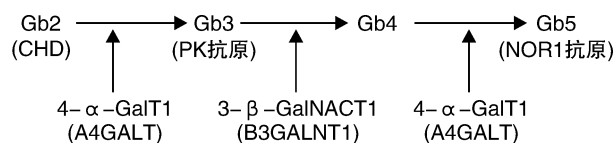


图 7 NOR1 抗原合成

5.3.2 抗原化学性质 无花果酶/木瓜酶: 不破坏抗原(增强抗原反应); 胰酶: 不破坏抗原(增强抗原反应)。目前, 对 NOR1 抗原又有了进一步的细分, 原来的 NOR1 抗原(即 NOR1, P₁ PK₄, 003004)在 3- β -N-乙酰半乳糖转移酶(3- β -Gal-T)作用下, 生成 NORint 抗原, 也称乳糖六糖糖苷(Gb6)。NORint 抗原在 4- α -半乳糖胺转移酶(4- α -Gal-T)作用下, 生成 NOR2 抗原, 也称乳糖七糖糖苷(Gb7)。这 2 个抗原目前尚未得到 ISBT 确认, 其中 4- α -半乳糖胺转移酶(4- α -Gal-T)可能与 NOR1 抗原的基因产物(是一个基因)相同。而 3- β -N-乙酰半乳糖转移酶

- [11] Ramkumar S, Sakac D, Binnington B, et al. Induction of HIV-1 resistance: cell susceptibility to infection is an inverse function of globotriaosyl ceramide levels [J]. *Glycobiology*, 2009, 19: 76—82.
- [12] Gang EJ, Bosnakovski D, Figueiredo CA, et al. SSEA-4 identified mesenchymal stem cells from bone marrow [J]. *Blood*, 2007, 109: 1743—1751.
- [13] Hellberg A, Poole J, Olsson ML. Molecular basis of the globoside-deficient P(k) blood group phenotype. Identification of four inactivating mutations in the UDP-N-acetylgalactosamine: globotriaosylceramide 3-beta-N-acetylgalactosaminyltransferase gene [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 29455—29459.
- [14] Cooling L, Dake LR, Haverty D, et al. A hemolytic anti-LKE associated with a rare LKE-negative, "weak P" red blood cell phenotype: alloanti-LKE and alloanti-P recognize galactosylgloboside and monosialogalactosylgloboside (LKE) antigens [J]. *Transfusion*, 2015, 55: 115—128.
- [15] Hellberg A, Schmidt-Melbye AC, Reid ME, et al. Expression of a novel missense mutation found in the A4GALT gene of Amish individuals with the p phenotype [J]. *Transfusion*, 2008, 48: 479—487.
- [16] Eder AF. Review: acute Donath-Landsteiner hemolytic anemia [J]. *Immunohematology*, 2005, 21: 56—62.
- [17] Poole J, Daniels G. Blood group antibodies and their significance in transfusion medicine [J]. *Transfus Med Rev*, 2007, 21: 58—71.
- [18] Okuda T, Nakayama K. Identification and characterization of the human Gb3/CD77 synthase gene promoter [J]. *Glycobiology*, 2008, 18: 1028—1035.
- [19] Das AM, Naim HY. Biochemical basis of Fabry disease with emphasis on mitochondrial function and protein trafficking [J]. *Adv Clin Chem*, 2009, 49: 57—71.
- [20] Kondo Y, Tokuda N, Furukawa K, et al. Efficient generation of useful monoclonal antibodies reactive with globotriaosylceramide using knockout mice lacking Gb3/CD77 synthase [J]. *Glycoconj J*, 2011, 28: 371—384.
- [21] uchadowska A, Kaczmarek R, Duk M, et al. A single point mutation in the gene encoding Gb3/CD77 synthase causes a rare inherited polyagglutination syndrome [J]. *J Biol Chem*, 2012, 287: 38220—38230.
- [22] Thuresson B, Westman JS, Olsson ML. Identification of a novel A4GALT exon reveals the genetic basis of the P1/P2 histo-blood groups [J]. *Blood*, 2011, 117: 678—687.
- [23] Hult AK. Forssman expression on human red cells: biochemical and genetic basis of a novel histo-blood group system candidate [J]. *Transfusion*, 2011, 51.
- [24] Lingwood CA, Binnington B, Manis A, et al. Globotriaosyl ceramide receptor function—Where membrane structure and pathology intersect [J]. *FEBS Lett*, 2010, 584: 1879—1886.
- [25] DR Branch. Blood groups and susceptibility to virus infection: new developments [J]. *Curr Opin Hematol*, 2010, 17: 558—564.
- [26] 李树中, 卞洁, 徐姿, 等. Junier 血型系统 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2014, 27(10): 913—915.
- [27] 卞洁, 李树中, 李凌波, 等. 一个新的血型抗原——Langereis 血型系统 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2015, 28(12): 1096—1100.
- [28] 徐姿, 李树中, 卞洁, 等. 红细胞血型抗原的研究进展 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2016, 29(4): 345—350.
- [29] 刘芸, 陆敏, 徐姿, 等. 多凝集红细胞的研究进展 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2016, 29(6): 215—217.
- [30] 方莹, 李树中, 李凌波, 等. forssman 血型系统 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2016, 29(2): 171—174.
- [31] 张志琴, 张黎雯, 谢怡萍, 等. Duffy 血型系统抗原研究进展 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2017, 30(4): 327—330.
- [32] 倪强, 李树中, 雒晶, 等. GIL 抗原研究进展 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2017, 30(10): 812—814.
- [33] 俞黎娅, 李树中, 雒晶晶, 等. VEL 血型抗原研究进展 [J]. *临床血液学杂志(输血与检验)*, 2018, 31(2): 161—163.

(收稿日期: 2018-03-27)