

红细胞血型 Indian 抗原研究进展

方莹¹ 李树中^{1△}

[关键词] IN 抗原;17 个外显子;黏附分子糖蛋白 44;输血反应
doi:10.13201/j.issn.1004-2806-b.2020.08.016
[中图分类号] Q343.1 [文献标志码] A

Research progress of Indian antigen of erythrocyte blood group

Summary The IN antigen is an antigen of the erythrocyte system, which has six antigens confirmed at present. Seventeen new exons were identified. The gene encoding product was adhesion molecule glycoprotein 44 and membrane differentiation antigen CD44. It can cause transfusion hemolysis and is an antigen of clinical significance. In antigen is one of the components of cytoskeleton protein, which participates in the formation of pseudopodia and cell migration. It has the function of adhesion of immune cells to tumor cells and is related to tumor metastasis.

Key words IN antigen;17 exons;adhesion molecule glycoprotein 44;transfusion reaction

Indian 血型抗原最初 1970 年发现于一个印度孟买人的血浆中,先发现了抗 In^a 抗体,而确认了 In^a 抗原的存在后,又发现了 In^b 抗原。1973 年国际输血协会(ISBT)确认了这是一个独立的红细胞系统抗原,并命名为 Indian 抗原,抗原的简称是 IN,系统编号是 023。2018 年 ISBT 最新确认这个系统有 6 个抗原,其中高频抗原 5 个,低频抗原 1 个,并且还确认了抗原详细的基因位点和外显子系列、以及抗原相关的分子生物学概念。本文就 IN 抗原近几年来国内外的一些研究报道,做一简略的介绍。

1 基因

IN 抗原的基因位点在 11 号染色体短臂 1 区 3 带,11p13,基因名:CD44,基因编号:960,基因长:100 533 bp,基因库注册号:NG_008937.1(DNA 基因组),有 17 个外显子(图 1)。17 个外显子长:5 748 bp(表 1),基因库注册号:NM_000610.3(mRNA 转录体 1)。基因编码产物:黏附分子糖蛋白 44,也称 CD44,蛋白登记编号:NP_000601.3。

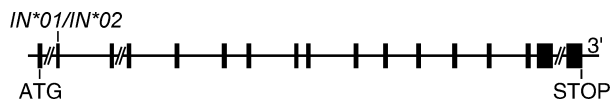


图 1 IN 抗原外显子序列

红细胞膜上的 CD44,也称 CD44 S(图 2)。表达在各处细胞的 CD44 糖蛋白,由于剪切拼接的不同,转录为不同的转录本。这些转录本有不同的 mRNA 外显子序列,编码的产物都是 CD44,但分子量大小不同。表达在造血组织、上皮细胞的

CD44,称 CD44v(也称 CD44H),由 7 个外显子组成,外显子长 3 985 bp,编码的 CD44 由 139 个氨基酸,分子量 37.2 KD(表 1)。

表 1 各外显子长 bp

外显子长		外显子长	
1	1~501	10	1 588~1 716
2	502~667	11	1 717~1 848
3	668~801	12	1 849~1 950
4	802~870	13	1 951~2 040
5	871~1 101	14	2 041~2 307
6	1 102~1 230	15	2 308~2 379
7	1 231~1 356	16	2 380~2 458
8	1 357~1 470	17	2 459~5 732
9	1 471~1 587		

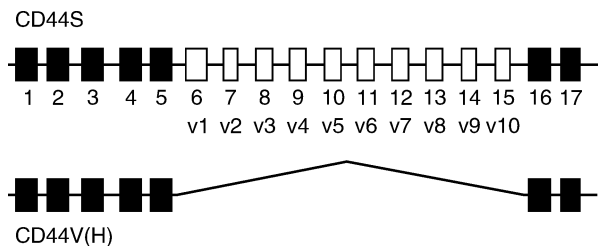


图 2 CD44S 与 CD44V 的外显子

CD44S 的外显子 6~15,被称为变性拼接外显子(V1~V10)。外显子 1~17 编码 N 端起始的膜外 248 个氨基酸,外显子 16 编码跨膜的 21 个氨基酸,外显子 17 编码膜内的 92 个氨基酸及 C 端。

CD44V(CD44H)是 CD44S 基因外显子在剪切拼接时去掉了 V1~V10,只剩下 7 个外显子。外显子 1~5 编码膜外部分及 N 端,外显子 6,7 编码翻译跨膜部分和膜内部分及 C 端^[1-7]。

IN 抗原的基因有多态性(表 2)。

¹ 江苏大学附属昆山医院(江苏昆山,215300)
[△] 审校者
通信作者;李树中,E-mail:kssyylsz@sina.cn

表 2 IN 基因多态性与表型

编号	基因名	外显子	核苷酸	氨基酸	表型	发生人群
1	CD44/IN* 01, -02 IN* A/IN1	2	137G>C	R46P	In(a+b-)	阿拉伯人、伊朗人、南亚人、印第安人、 亚洲人、黑人白人罕见
		2	207T>C	A69A		
		2	255T>C	H85H		
		3	326A>C	Y109S		
		5	716G>A	G239E		
2	CD44/IN* 02, -03	3	255C>G	H85G	IN:-3	摩洛哥人(罕见)
3	CD44/IN* 02, -04	5	488C>4	T163K	In:-4	巴基斯坦(罕见)
4	CD44/IN* 01, -01 IN* B/IN2				IN:-2 (Ina-b+)	

2 分子生物学

IN 抗原糖蛋白也是 CD44, 抗原表位都在膜外段的折叠肽链部分。标准型的 CD44S, 由 361 个氨基酸组成(图 3), 膜外部分由 248 个氨基酸, N 端在膜外, 跨膜部分由 21 个氨基酸组成, 膜内由 92 个氨基酸组成, C 端留在膜内分子量 80 KD(图 3)。

IN 糖蛋白链上有 6 个 N-糖基化位点, 有 4 个

硫酸软骨素位点, O-聚糖化位点, 有 2 个透明质结合位, 在氨基酸 18~26 位及 13~142 位。

透明质酸型 CD44 主要表达在红细胞膜和各种组织细胞膜上, 是标准 CD44S 与硫酸软骨素结合后, 作为透明质酸受体, 能结合透明质酸, 参与红细胞免疫。透明质酸型 CD44 分子量 180~215 KD。

MDKFWHAAW	GLCLVPLSLA	QIDLNITCRF	AGVFHVEKNG	RYSISRTEAA	50
DLCKAFNSTL	PTMAQMEKAL	SIGFETCRYG	FIEGHVVIPR	IHPNSICAA	100
NTGVYILTYN	TSQYDTYCFN	ASAPPEEDCT	SVTDLPNAFD	GPITITIVNR	150
DGTRYVQKGE	YRTNPEDIYP	SNPTDDDVSS	GSSSERSSTS	GGYIFYTFST	200
VHPIPEDDSP	WITDSTDRIP	ATRDQDTFHP	SGGSHTTHES	ESDGHSHGSQ	250
EGGANTTSGP	IRTPQIPEWL	IILASLLALA	LILAVCIAVN	SRRRCGQKKK	300
LVINSGNGAV	EDRKPSGLNG	EASKSQEMVH	LVNKESSETP	DQFMTADETR	350
NLQNVDMKIG	V				361

图 3 CD44 氨基酸序列

CD44 不仅表达在红细胞膜上, 也广泛表达在血细胞(粒细胞、淋巴细胞、单核细胞)、胸腺、中枢神经系统白质及表皮、骨骼肌、胃、肠、肝、膀胱等处上皮细胞。表达在红细胞膜上是 CD44S, 标准型 CD44S 由 361 个氨基酸组成, 剪切型 CD44S 由 341 个氨基酸组成(剪切掉了 20 个前导肽)。表达在上皮细胞膜上的是 CD44V, 分子量 110~160 KD。

IN 糖蛋白的膜外部分为 2 部分(图 4): ①靠近末端部分, 有 7 个 O 糖基化位点, 4 个硫酸软骨素连接位点; ②末梢区端部分, 有 5 个 N 糖基化位点, 有 6 个半胱氨酸残基, 它们之间以二硫键相接, 形成一个环, 按顺序以 1, 2, 3 连接 6, 5, 4。

IN 糖蛋白的跨膜部分, 与带 4.1 蛋白相连, 与锚定蛋白结合, 构成膜成份。IN 相同主要抗原的表位都在膜外区, In^a/In^b 是复等位基因产物, 二者相差是 46 位氨基酸, In^a/In^b 是 Pro46Arg。INFI 表达在 85 位是 His, 如果不表达 INFI 抗原时则是 Gin。INJA 表达在 163 位是 Thr, 如果不表达 INJA 时是 Lys^[8-14]。

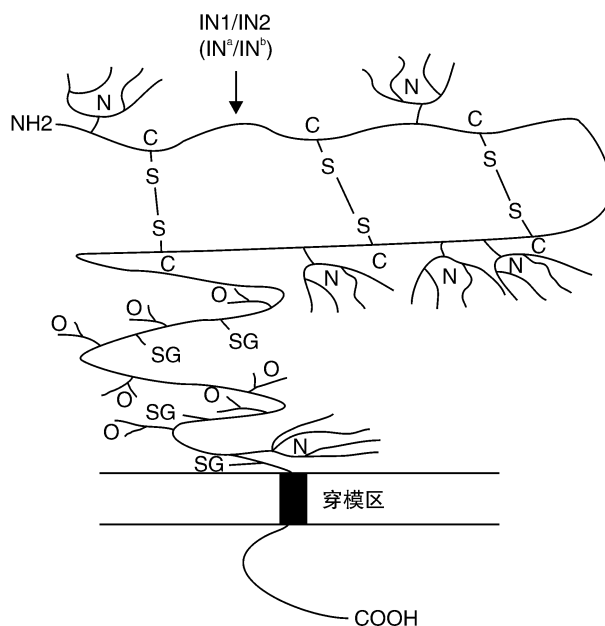


图 4 CD44S 穿膜糖蛋白(1 型跨膜蛋白)

3 免疫血型学

Indian 系统确认有 6 个抗原,其中高频抗原: In^b 、INFI、INJA、INRA、INSL。低频抗原: In^a 。IN 系统各抗原表位见图 5。

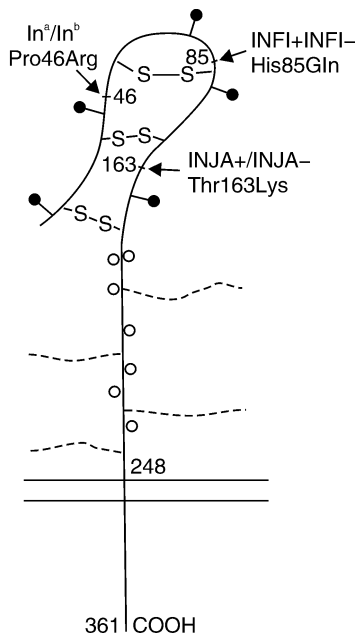


图 5 IN 抗原

IN 抗原在膜上抗原数量为 2 000~5 000 个/每个红细胞。IN 抗原与 Lu 抗原(005)、I/i 抗原(027)、CD75 之间有关联性。

Lu_{null} 型是 $In(Lu)$ 基因,此型红细胞(In^b 阳性)与抗 In^b 反应弱于 Lu 抗原正常的红细胞(In^b 阳性)与抗 In^b 的反应,只有正常细胞的 25%~29% 反应。而 Lu_{null} 型 [$In(Lu)$ 基因] 的隐性 X-连锁型红细胞(In^b 阳性)与抗 In^b 的反应,却正常反应或增强反应(反应或强于 Lu 抗原正常的 In^b 阳性红细胞)。I/i 抗原与 IN 抗原有相关性。

3.1 In^a , IN1, 023001

1973 年发现于 1 例印度孟买人,抗原名取自印度(Indian),早期命名为 203001。 In^a 是低频抗原。 In^a 与 In^b 是等位基因共显性对应抗原。抗原表位,在 46 位脯氨酸(Pro46)。由外显子 2 上 137 bp 处的 C 转录翻译。 In^a 在孕妇、新生儿红细胞弱表达,孕妇红细胞上 In^a 只有正常人的 38%,新生儿只有 1/4。抗原分布印度人 10.6%,伊朗人 10.6%,孟加拉人 11.8%,阿拉伯人 10.0%,南亚人 4.0%,其他人群均 <0.1%。 In^a 抗原在南亚分布较高,但单独 $In^a(+)$ 的比较少,一般是 $In(a+b+)$ 时分布才会较高(表 3)。抗 In^a 抗体:大多数是 IgM。可能会引起输血性溶血反应,但一般不会引起 HDN。 In^a 是免疫原性较高的抗原,所以很容易产生抗 In^a ,虽然可造成 IAT

阳性,但放射标记 $In^a(+)$ 红细胞与抗 In^a 复合物 20 分子就会被免疫系统清除。

表 3 In^a 与 In^b 表型

表型	高加索人、黑人	印度南方人	伊朗人、阿拉伯人
$In(a+b-)$	稀有	稀有	稀有
$In(a-b+)$	99.9	96	90
$In(a+b+)$	<0.1	4	10
$In(a-b-)$			

注: $In(a-b-)$ 个体大多是 $CO(a-b-)$ 表型,以及 Lu 弱表达。

3.2 In^b , IN2, 023002

早期命名为 203002, salis。 In^b 是高频抗原。抗原分布高加索人 99%,印度南部人 96%。 In^b 与 In^a 是共显等位基因共显性对应抗原。抗原表位,在 46 位精氨酸(Arg46)。由外显子 2 上 137 bp 处的 G 转录。 In^b 是免疫原性较高的抗原,输入 50 ml 不相合的血后 24 h 就会产生抗体,即可造成急性输血性溶血。母婴血型不合,可在母体内产生抗 In^b ,大多数是 IgG, DAT 阳性、婴儿 DAT 阳性,但不会引起 HDN,这可能是胎儿单核、巨噬细胞上的 CD44 有封闭抗体 Fc γ R1 作用。 In^b 在孕妇及 $Lu(a-b-)$ 弱表达。抗 In^b 抗体大多数是 IgG。大多数由免疫产生,可因输血后产生或母婴血型不合产生,能引起急性输血性溶血,但不会引起 HDN。

3.3 INFI, IN3, 023003

2006 年发现于 3 例怀孕的摩洛哥妇女,抗原名中的 In 是系统名,FI 是先证者。INFI 是高频抗原,在所有人 群都 >99%。INFI 在孕妇、 $Lu(a-b-)$ 红细胞上弱表达。抗原表位,在 85 位组氨酸(85His)。当 85 位表达谷氨酸时 $InFI(-)$ 表达。外显子 3 上 255 bp 发生突变, C255G, 使氨基酸发生 His85Gln 改变,导致 $InFI(+)$ 转变为 $InFI(-)$ 。抗 $InFI$ 抗体:主要是 IgG,多是免疫产生。

3.4 INJA, IN4, 023004

发现于 2006 年。抗原名中 In 是系统名,JA 是先证者。INJA 是高频抗原。抗原表位,在 163 位苏氨酸(Thr163)。外显子 5 上 C488A 突变,导致发生氨基酸发生 Thr163Lys 置换,导致 INJA (+) 转变为 INJA (-)。INJA 在孕妇、 $Lu(a-b-)$ 红细胞上弱表达。抗 INJA 抗体:主要是 IgG^[15-21]。

4 临床意义

CD44 主要功能:①介导淋巴细胞与毛细血管后小静脉中的高柱状内皮细胞结合,促使淋巴细胞回到淋巴组织。②参与淋巴细胞的激活。③与细

胞外基质中的透明质酸、层黏连蛋白等基质分子结合。④与细胞骨架蛋白结合,参与细胞伪足形成,与细胞迁移运动有关。⑤参与细胞粘附功能,使免疫细胞黏附到肿瘤细胞上,启动免疫机制。⑥与肿瘤转移相关,CD44V6 可能是 β -cat-TCF/LEF 复合体靶基因。在鼻咽癌组织中 CD44V6 蛋白表达率高达 72.8%,淋巴节转移病例中 CD44V6 蛋白表达达 82.4%^[22-23]。

5 结束语

本文在 In 抗原的基因、外显子序列、IN 糖蛋白分子功用、免疫功能、抗原的临床特性等方面做了简略介绍。In 抗原是一个有临床意义的红细胞血型抗原,能引起输血性溶血反应。In 抗原也是重要的红细胞免疫机制参与者,与许多肿瘤有关联性。

目前,红细胞血型抗原的研究有了很大的进展,陆续完善了许多原有抗原的新理论和新理解:如 P1Pk 抗原、MNS 抗原、GIL 抗原、RHAG 抗原、I 抗原、GLOB 抗原、GE 抗原,以及本文介绍的 In 抗原都有了很多新的了解。由于基因测序技术和基因试剂盒的广泛应用,以及质谱仪、流式细胞仪的普及应用,使我们对红细胞抗原的研究和发现有了便利的条件,在今后的研究中,会有更多的红细胞血型抗原新概念被发现^[24-36]。

参考文献

- [1] Gogri H, Pitale P, Madkaikar M, et al. Molecular genotyping of Indian blood group system antigens in Indian blood donors [J]. *Transfus Apher Sci*, 2018, 57:388-390.
- [2] Joshi SR, Sheladiya A, Mendapara-Dobariya KV, et al. INRA, a new high-frequency antigen in the INDIAN(IN023) blood group system[J]. *Asian J Transfus Sci*, 2017, 11:121-123.
- [3] Geoff Daniels. *Human Blood Groups* [M]. 3rd. edition, 2013:449-456.
- [4] Marion E. Reid. *The Blood Group Antigen* [M]. Facts-Book, 2012:567-576.
- [5] Yang B, Dai JX, Pan YB, et al. Identification of biomarkers and construction of a microRNA-mRNA regulatory network for ependymoma using integrated bioinformatics analysis [J]. *Oncol Lett*, 2019, 18:6079-6089.
- [6] Lopez GH, Mcbean RS, Wilson B, et al. Molecular typing for the Indian blood group associated 252G>C single nucleotide polymorphism in a selected cohort of Australian blood donors [J]. *Blood Transfus*, 2015, 13:78-85.
- [7] Ghoshal S, Gajendra P, Datta Kanjilal S, et al. Diversity analysis of MSP1 identifies conserved epitope organization in block 2 amidst high sequence variability in Indian *Plasmodium falciparum* isolates[J]. *Malar J*, 2018, 17:447.
- [8] Geng B, Pan J, Zhao T, et al. Chitinase 3-like 1-CD44 interaction promotes metastasis and epithelial-to-mesenchymal transition through β -catenin/Erk/Akt signaling in gastric cancer[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2018, 30, 37:208.
- [9] Nakano M, Ito M, Tanaka R, et al. Epithelial-mesenchymal transition is activated in CD44-positive malignant ascites tumor cells of gastrointestinal cancer[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109:3461-3470.
- [10] Monroy EAC, de Andrade Santos PP, de Sousa Lopes MLD, et al. Oct-4 and CD44 in epithelial stem cells like of benign odontogenic lesions[J]. *Histochem Cell Biol*, 2018, 150:371-377.
- [11] Kim CK, Oh S, Kim SJ, et al. Correlation of IGF1R expression with ABCG2 and CD44 expressions in human osteosarcoma [J]. *Genes Genomics*, 2018, 40:381-388.
- [12] Kim GH, Won JE, Byeon Y, et al. Selective delivery of PLXDC1 small interfering RNA to endothelial cells for anti-angiogenesis tumor therapy using CD44-targeted chitosan nanoparticles for epithelial ovarian cancer[J]. *Drug Deliv*, 2018, 25:1394-1402.
- [13] Bitaraf SM, Mahmoudian RA, Abbaszadegan M, et al. Association of Two CD44 Polymorphisms with Clinical Outcomes of Gastric Cancer Patients [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2018, 19:1313-1318.
- [14] Lin X, You X, Cao X, et al. Association of Single-Nucleotide Polymorphisms of CD44 Gene with Susceptibility to Breast Cancer in Chinese Women[J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24:3077-3083.
- [15] Ryoo IG, Choi BH, Ku SK, et al. High CD44 expression mediates p62-associated NFE2L2/NRF2 activation in breast cancer stem cell-like cells; Implications for cancer stem cell resistance[J]. *Redox Biol*, 2018, 17:246-258.
- [16] Liu Y, Wu T, Lu D, et al. CD44 overexpression related to lymph node metastasis and poor prognosis of pancreatic cancer[J]. *Int J Biol Markers*, 2018, 33:308-313.
- [17] Hirth CG, Dos Santos AM, de Cerqueira JBG, et al. PanCD44 Immunohistochemical Evaluation in Prostatectomies from Patients with Adenocarcinoma[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018:2061268.
- [18] Fan Z, Xia H, Xu H, et al. Standard CD44 modulates YAP1 through a positive feedback loop in hepatocellular carcinoma[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103:147-156.
- [19] Tongtawee T, Wattanawongdon W, Simawaranon T, et al. Expression of Cancer Stem Cell Marker CD44 and Its Polymorphisms in Patients with Chronic Gastritis, Precancerous Gastric Lesion, and Gastric Cancer: A Cross-Sectional Multicenter Study in Thailand [J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017:4384823.

- [20] Hagiwara M, Kikuchi E, Tanaka N, et al. Variant isoforms of CD44 involves acquisition of chemoresistance to cisplatin and has potential as a novel indicator for identifying a cisplatin-resistant population in urothelial cancer[J]. *BMC Cancer*, 2018, 18: 113.
- [21] Hou H, Ge C, Sun H, et al. Tunicamycin inhibits cell proliferation and migration in hepatocellular carcinoma through suppression of CD44 s and the ERK1/2 pathway[J]. *Cancer Sci*, 2018, 109: 1088–1100.
- [22] Matuura H, Miyamoto M, Takano M, et al. Low Expression of CD44 Is an Independent Factor of Poor Prognosis in Ovarian Mucinous Carcinoma[J]. *Anticancer Res*, 2018, 38: 717–722.
- [23] Timirci-Kahraman Ö, Verim A, Verim A, et al. Expression of miR-373 and its predicted target genes E-cadherin and CD44 in patients with laryngeal squamous cell carcinoma [J]. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)*, 2017, 63: 29–33. ,
- [24] 李树中, 卞洁, 徐姿, 等. Junier 血型系统[J]. *临床血液学杂志*, 2014, 27(10): 913–915.
- [25] 卞洁, 李树中, 李凌波, 等. 一个新的血型抗原—Langeris[J]. *临床血液学杂志*, 2015, 28(12): 1096–1100.
- [26] 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*, 2016, 29(4): 345–350.
- [27] 刘芸, 李树中, 李中华, 等. 多凝集红细胞的研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(6): 215–217.
- [28] 方莹, 李树中, 李凌波, 等. forssman 血型系统[J]. *临床血液学杂志*, 2016, 29(2): 171–174.
- [29] 张志琴, 李树中, 谢怡萍, 等. Duffy 血型系统抗原研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2017, 30(4): 327–330.
- [30] 倪强, 李树中. GIL 抗原研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2017, 30(10): 812–814.
- [31] 俞黎娅, 陆敏, 李树中, 等. VEL 血型抗原研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2018, 31(2): 161–163.
- [32] 刘芸, 李树中, 雒晶晶, 等. AUG 血型抗原研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2018, 31(6): 485–490.
- [33] 范春丽, 李树中, 李中华, 等. P1PK 血型抗原研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2018, 31(8): 643–648.
- [34] 张志琴, 李树中, 李中华, 等. Duffy 血型抗原的 G-蛋白偶联受体作用[J]. *临床血液学杂志*, 2019, 32(2): 162–166.
- [35] 王鹤, 李树中, 李中华, 等. RHAG 血型抗原研究进展[J]. *临床血液学杂志*, 2019, 32(6): 479–482.
- [36] 叶小英, 李树中, 李中华, 等. CD59-血型抗原的研究新进展[J]. *临床血液学杂志*, 2019, 32(6): 487–489.

(收稿日期: 2019-06-24)

(上接第 576 页)

2014 年我国曾发现 1 例 Xg 血型病例, 该患者有过输血史, 体内抗-Xg^a 抗体为 IgM + IgG 类混合抗体, 引起交叉配血不相合。本患者体内含有抗 Xg^a 抗体, 在 37℃ 有反应, 且盐水试验阴性, 考虑为 IgG 类抗体, 有临床意义。此病例提示输血科工作人员对择期手术患者也要进行不规则抗体筛查试验, 对阳性患者要进一步鉴定抗体, 提前准备抗原阴性的血液配合性输注。但此患者为男性, 且没有输血史, 此抗体的产生还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Yeh CC, Chang CJ, Twu YC, et al. The molecular genetic background leading to the formation of the human erythroid-specific Xga/CD99 blood groups[J]. *Blood*, 2018, 2: 1854–1864.
- [2] Möller M, Lee YQ, Vidovic K, et al. Disruption of a

GATA1-binding motif upstream of XG/PBDX abolishes Xga expression and resolves the Xg blood group system[J]. *Blood*, 2018, 132: 334–338.

- [3] Lane WJ, Aguad M, Smeland-Wagman R, et al. A whole genome approach for discovering the genetic basis of blood group antigens: independent confirmation for P1 and Xg^a [J]. *Transfusion*, 2019, 59: 908–915.
- [4] 李勇, 马学严. 实用血液免疫学[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 245–246.
- [5] Lee YQ, Storry JR, Karamatic Crew V et al. A large deletion spanning XG and GYG2 constitutes a genetic basis of the Xgnull phenotype, underlying anti-Xga production[J]. *Transfusion*, 2019, 59: 1843–1849.

(收稿日期: 2019-08-16)