

• 临床研究 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2024.05.025

ABO 正反定型不符的白血病患者血型鉴定与临床分析*

李 茜,张智慧,高力立,彭沫溱,陈 璐,赵梓昕,寸 伟,罗 臻[△],苏品璨

云南昆明血液中心输血研究室,云南昆明 650106

摘要:目的 对 1 例白血病患者 ABO 血型鉴定异常结果进行鉴定与回顾性分析,旨在为同类患者血型相容性检测提供参考。方法 采用血清学检测进行 ABO 血型鉴定,采用聚合酶链反应-序列特异性引物进行 ABO 血型基因分型;采用亚硫酸氢盐测序检测 ABO 启动子甲基化状态。结果 患者 ABO 血型正定型结果为 O 型,反定型结果为 A 型,正反定型结果不一致;试管法重复试验,4℃ 时可见 A1c 凝集;吸收放散试验结果显示红细胞表面存在 A 抗原,提示正定型结果为 A 型;不规则抗体筛查阴性,直接抗人球蛋白试验阴性;基因分型检测基因型为 AO1,表型为 A 型;甲基化检测发现患者 ABO 基因启动子区甲基化率为 66.7%,明显高于随机选取的 5 例正常对照组标本平均甲基化率。结论 白血病患者 ABO 抗原减弱可能导致血型误判,疾病状态下患者 ABO 基因启动子甲基化程度增高可能与其 ABO 抗原减弱密切相关,须结合分子生物学基因分型和血型基因甲基化检测方法进一步判断患者血型鉴定异常的原因,保障临床用血安全。

关键词:白血病; ABO 血型鉴定; 血清学检测; 聚合酶链反应-序列特异性引物; 甲基化**中图法分类号:**R733.7;R457.1+1**文献标志码:**A**文章编号:**1672-9455(2024)05-0695-05

输血作为一种临床救治患者的常用治疗手段,既可提高患者携氧功能,又能改善其凝血功能障碍,因此,输血前的 ABO 血型鉴定对保障临床输血安全尤为重要。ABO 血型是由 ABO 基因编码决定的,一般情况下人体 ABO 血型不会发生改变。白血病是起源于造血干细胞或祖细胞的恶性克隆性疾病^[1-2],白血病患者处于疾病状态可能引起自身体内血细胞或血浆成分发生改变,导致 ABO 抗原减弱或 ABO 抗体效价降低,出现 ABO 血型鉴定正反定型不相符的情况,极易引起血型误判,直接关系临床输血安全^[3-4]。多种因素均可导致患者 ABO 抗原减弱,近年来,有研究发现,ABO 基因启动子区甲基化程度与 ABO 抗原表达异常有关^[5-8],但相关文献报道较少见。本研究通过血清学、聚合酶链反应-序列特异性引物(PCR-SSP)检测和 ABO 基因启动子区甲基化状态检测等检测手段对 1 例白血病患者 ABO 血型鉴定检测异常结果、原因及处理方法进行了分析,初步探讨了白血病中 ABO 基因甲基化状态异常导致 ABO 抗原表达减弱在输血相容性检测中的临床意义,以期临床诊疗提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 血液标本来源于云南省肿瘤医院,患者,女,24 岁,患恶性血液病,有 2 次输血史,患者知情同意本研究并签署知情同意书。患者于 2022 年 2 月 3 日初次诊断为白血病,目前患者白细胞计数(WBC)为 $206 \times 10^9/L$,血红蛋白(Hb)为 51 g/L,血小板计数(PLT)为 $38 \times 10^9/L$,同时伴有脾脏肿大。

患者严重贫血,急需输血,因其 ABO 血型鉴定正/反定型不一致(正定型结果为 O 型,反定型结果为 A 型),医院将患者血液标本送检至血液中心进行 ABO 血型鉴定和疑难交叉配血实验。

1.2 仪器 ABO 血型定型检测卡配套孵育器和离心机(长春博迅生物技术有限责任公司),KA2200 型血型血清学专用离心机(日本久保田公司),电热恒温水浴箱(上海博迅实业有限公司),冰箱(海尔集团海尔电冰箱有限公司),MagCore HF16 自动核酸提取仪(中国台湾 RBC Bioscience 公司),T100 PCR 反应扩增仪(美国 Bio-Rad Laboratories 公司),PowerPac TM 基础电泳仪(美国 Bio-Rad Laboratories 公司),ChemiDoc XRS+凝胶成像系统(美国 Bio-Rad Laboratories 公司),3730 测序列分析仪(美国 ABI 公司),SW-CJ-1D 洁净工作台(江苏苏洁净化设备厂),DK-8D 型电热恒温水槽(上海森信实验仪器有限公司),DYY-8 型稳压稳流电泳仪(上海琪特分析仪器有限公司),YXJ-2 离心机(湘仪离心机仪器有限公司),H6-1 微型电泳槽(上海精益有机玻璃制品仪器厂),U-3010 紫外-可见分光光度计(Hitachi 公司),移液器(范围 100~1 000 μL ,20~200 μL ,0.5~10 μL ,德国艾本德 EPPENDORF 公司)。

1.3 试剂 抗-A、抗-B 血型定型试剂-单克隆抗体(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20220101),ABO 血型卡正/反定型和 RhD 血型检测卡-微柱凝胶法(DiaMed GmbH/Bio-Rad 低离子抗人球蛋白卡,批号 50093.11.28),抗-A1 凝集素(上海血液生物医药

* 基金项目:云南省临床医学中心分中心开放项目(2020LCZXKF-XY19)。

[△] 通信作者,E-mail:kmbloodlz@gmail.com。

有限责任公司,批号 20221019),抗-H 单克隆抗体(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20221110),抗-AB 抗体(DIAGAST,批号 464000),抗人球蛋白[抗免疫球蛋白 G(抗-IgG),抗-C3d]检测试剂盒(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20225001),抗-IgG 检测试剂盒(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20215102),抗 C3d 检测试剂盒(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20225201),人 ABO 血型反定型用红细胞试剂盒(上海血液生物医药有限责任公司,批号 20235313),低离子抗人球蛋白卡-微柱凝胶法(DiaMed GmbH/Bio-Rad,批号 50531.76.10),不规则抗体检测试剂(人血红细胞,长春博迅生物技术有限责任公司,批号 20221208),红细胞血型抗体筛选细胞(微柱凝胶法)Serascan Diana 3(Diagnostic Grifols, S. A. 西班牙基立福公司,批号 23007.01);核酸提取试剂盒(中国台湾 RBC Bioscience 公司,批号 P4101-17230);人类红细胞 ABO 血型基因分型试剂盒 PCR-SSP 法(天津秀鹏生物技术开发有限公司,批号 202004001),MethylEdge™ Bisulfite Conversion System(Promega,批号 0000470334),焦碳酸二乙酯处理水(碧云天 Beyotime,批号 111122230306),TaKaRa EpiTaq™ HS (TaKaRa,批号 AM20984A),加样缓冲液(Takara,批号 ALG988A),BigDye 测序反应试剂盒(ABI 公司,批号 91235489),POP 7 测序胶(ABI 公司,批号 2211711),10×电泳缓冲液(ABI 公司,批号 2208378)。

1.4 检测方法

1.4.1 血型血清学检测 采集患者肘部静脉血进行检测,ABO 血型正/反定型鉴定、间接抗人球蛋白试验、不规则抗体筛查采用微柱凝胶卡法和试管法;直接抗人球蛋白试验(DAT)采用试管法;将抗-A、抗-B 分别与经盐水洗涤 3 次的受检者浓缩红细胞等量混合进行吸收放散试验。所有试验操作均按照标准操作规范^[9-10]和试剂盒说明书进行。

1.4.2 PCR-SSP 检测 取患者乙二胺四乙酸外周抗凝全血 400 μ L,使用自动核酸提取仪提取基因组 DNA,采用微量紫外分光光度计检测 DNA 浓度和纯度。按照人类红细胞 ABO 血型基因分型试剂盒说明书进行 PCR-SSP 法基因分型 PCR 扩增试验。配制 2.0%的琼脂糖凝胶,将 5 μ L 扩增 PCR 产物进行电泳检测,于 120 V 恒定电压条件下电泳 40 min 后使用凝胶成像系统成像,记录试验结果并根据试剂盒说明书结果分型表判定基因型。

1.4.3 ABO 基因启动子区甲基化检测 采用亚硫酸氢盐测序法(BSP)检测标本 ABO 基因启动子区 CpG 岛甲基化状态。根据 MethylEdge™ Bisulfite Conversion System 试剂盒说明书,对患者基因组 DNA 进行亚硫酸氢盐修饰,使检测标本基因组 DNA 中未发生甲基化的胞嘧啶通过亚硫酸氢盐处理后转

化为尿嘧啶,甲基化的 CpG 胞嘧啶则不变。在 NCBI 数据库下载 ABO 基因序列,应用 Methyl primer express software v1.0 和 MethPrimer 软件选取 ABO 基因启动子区富含 CpG 位点的区域,并设计扩增引物,检测片段分别为 175、160 bp,共包含 13 个 CpG 位点,分别编号为 1~13,扩增引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,上游引物序列 1:ATGTT-GTTTAGGTTGGAGTGTAGTG,下游引物序列 1:ACCAACATAATAAATCCTCCATCTC;上游引物序列 2:TTTAAAGTAGTTGGGGTTATAGAT,下游引物序列 2:ACCTACAATCCTAACACTTTC AA。以亚硫酸氢盐修饰后的患者基因组 DNA 为模板,根据 TaKaRa EpiTaq™ HS 说明书要求扩增目标序列。PCR 反应体系为 50 μ L,包括亚硫酸氢盐修饰后 DNA 模板 2 μ L, TAKARA EpiTaq™ HS (5 U/ μ L) 0.25 μ L,10×EpiTaq PCR Buffer(Mg²⁺ free)5 μ L,25 mM MgCl₂ 5 μ L,2.5 mM dNTP Mixture 6 μ L,上下游引物各 2 μ L,其余用无菌水补足。PCR 条件为 94 $^{\circ}$ C,1 min;98 $^{\circ}$ C,10 s;57 $^{\circ}$ C,30 s;72 $^{\circ}$ C,30 s;40 个循环;72 $^{\circ}$ C 终延伸 10 min;终止在 4 $^{\circ}$ C。将 PCR 产物进行 DNA 琼脂糖凝胶电泳后对目的条带进行切胶,使用 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒进行纯化回收;使用 HieffClone™ Zero TOPO-TA Cloning Kit 试剂盒对目的片段进行目的片段 TA 克隆;使用生工质粒提取试剂盒 SK8191 UNIQ-10 柱式质粒小量抽提试剂盒提取质粒 DNA;将质粒使用 Pst I 单酶切,琼脂糖凝胶电泳检查片段大小,确定是否含有目的片段,鉴定阳性克隆子;将阳性克隆子送生工生物工程(上海)股份有限公司进行序列分析。

1.5 统计学处理 采用 Chromas(Version 2.3)软件分析测序峰图,使用甲基化分析软件 BIQ Analyzer 分析目标序列 CpG 位点甲基化情况,并将 BSP 测序结果以圆圈图输出。目标序列中有 13 个 CpG 岛位点,计算 CpG 岛甲基化位点数占总 CpG 岛位点的百分比,计算甲基化率。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ABO 血型鉴定 患者 ABO 血型正定型结果为 O 型,反定型结果为 A 型,正反定型结果不一致,4 $^{\circ}$ C 时试管法可见 A1c 凝集。见表 1。不规则抗体筛查试验结果显示,患者血浆与 3 种抗体筛查细胞均无凝集。见表 2。DAT 结果显示,抗-IgG+C3d、抗-IgG、抗-C3d 均为阴性。吸收放散试验结果显示,患者红细胞表面存在 A 抗原。见表 3。

2.2 PCR-SSP 法检测 ABO 基因分型检测出患者 PCR-SSP 基因分型格局 1、2、4、6、8、9、11 孔为阳性,3、5、7、10 孔为阴性。对照人类红细胞 ABO 血型基因分型试剂盒(天津秀鹏生物技术开发有限公司)结果分型表判定患者基因型为 AO1,表型为 A 型。见图 1。

表 1 ABO 血型鉴定正反定型结果

方法	正定型					反定型				
	抗-A	抗-B	抗-AB	抗-H	抗-A1	Alc	Bc	Oc	A2c	自身 c
微柱凝胶法(Gel)	0	0	/	/	/	0	4+	0	/	0
试管法(RT-IS)	0	0	0	4+	0	0	2+ ^S	0	0	0
试管法(4 ℃-IS)	0	0	0	4+	0	2+	3+	0	0	0
试管法(37 ℃-IS)	0	0	0	4+	0	0	1+ ^S	0	0	0

注：0 表示阴性；1+~4+表示阳性，强度以 1~4 数值表示；^S 表示凝集加强；/表示未检测。

表 2 不规则抗体筛查试验结果

抗筛试剂 红细胞	Rh-hr						Kell				Duffy		Kidd	
	D	C	E	c	e	C ^W	K	k	Kp ^a	Js ^a	Fy ^a	Fy ^b	Jk ^a	Jk ^b
I	+	+	0	0	+	0	0	+	0	nt	0	+	+	0
II	+	0	+	+	0	0	0	+	0	nt	+	+	+	+
III	0	0	0	+	+	0	+	+	0	nt	+	0	0	+

抗筛试剂 红细胞	Lewis		P	MNS				Luth.	Colt.	Xg	Xg ^a	微柱凝胶法
	Le ^a	Le ^b		M	N	S	s					
I	+	0	+	0	+	0	+	0	0	+		0
II	0	+	0	+	0	+	+	+	0	+		0
III	0	+	+	+	+	+	0	0	0	+		0

注：0 表示阴性；+表示阳性。

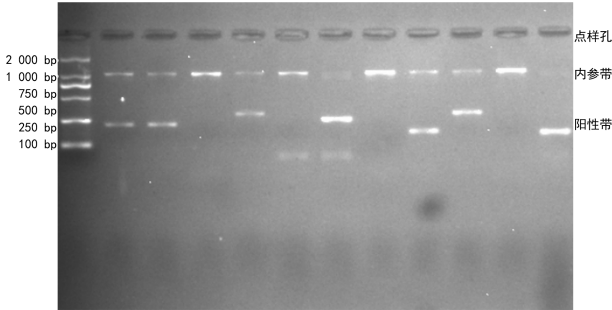
表 3 受检者吸收放散试验结果

标本来源	放散试验		
	A1c	Bc	Oc
患者	2+	0	0
阴性对照	0	0	0

注：0 表示阴性；+表示阳性。

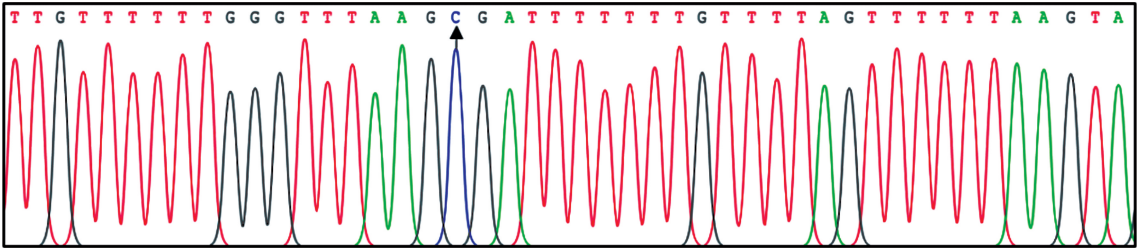
2.3 ABO 基因启动子区甲基化检测 经 BSP 检测 ABO 基因启动子区部分序列的甲基化水平,待检测标本 DNA 经亚硫酸氢盐试剂盒转化处理后甲基化的胞嘧啶不发生改变,经 PCR 扩增和 TA 克隆测序检测到该 CG 位点仍为 CG;而未甲基化修饰的胞嘧啶则转化为尿嘧啶,经 PCR 扩增和 TA 克隆测序检测到该 CG 位点转化为 TG。检测标本的甲基化率指检测区域中甲基化的 CpG 数量与该区域 CpG 总数量的比值。将 ABO 基因启动子富含 CpG 岛区域检测片段大小为 175、160 bp 序列进行 TA 克隆测序。见图

2~4。甲基化状态分析结果显示,患者标本 ABO 基因启动子区甲基化率为 66.7%,高于随机选取的 5 例正常对照组标本平均甲基化率(<25%),差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 5。



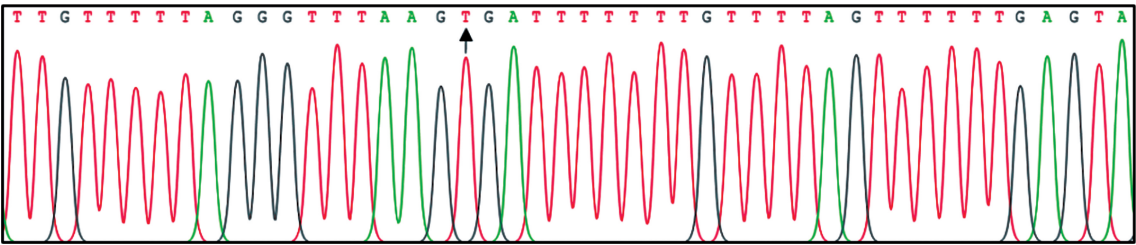
注：片段大小从下至上依次为 100、250、500、750、1 000 bp 和 2 000 bp;检测目的条带均同时检测内参质控带,内参为人类生长激素基因的保守片段,大小约为 1 000 bp。

图 1 PCR-SSP 基因分型



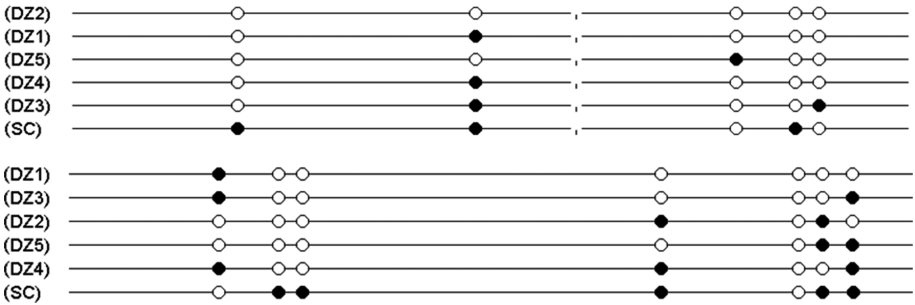
注：箭头表示该 CG 位点的 C 为甲基化的碱基。

图 2 CpG 岛甲基化 CG 位点



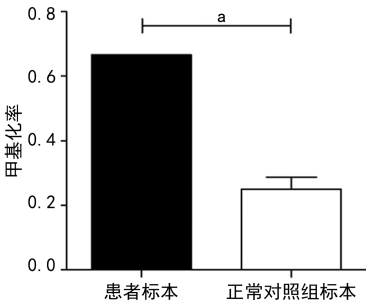
注:箭头表示 CG 位点的 C 未被甲基化,CG 转化为 TG。

图 3 CpG 岛非甲基化 CG 位点



注:DZ1、DZ2、DZ3、DZ4、DZ5 为对照组标本,SC 为受检白血病患者标本;○为非甲基化位点,●为甲基化位点;图中分别为患者标本和正常对照组标本 ABO 基因启动子 175 bp 和 160 bp 区域甲基化状态分析情况。

图 4 患者 ABO 基因启动子区甲基化状态



注:与正常对照组比较,^a $P<0.001$ 。

图 5 患者标本与正常对照组标本甲基化情况比较

3 讨 论

白血病是一类造血干细胞异常的克隆性恶性疾病,由于发生病变的白细胞失去分化成熟的能力,停滞于其发育的不同阶段,进而引起患者骨髓和其他造血组织中病变细胞大量增殖积聚并浸润其他器官和组织,导致患者造血功能异常,出现病态造血而无法产生足量的正常血细胞,临床表现为贫血、出血、感染及各器官浸润症状,输血是白血病非常重要的辅助治疗手段之一^[1-2]。在临床输血治疗过程中 ABO 血型的正确鉴定尤为重要。人类 ABO 血型抗原由 ABO 基因编码,ABO 基因位于人类第 9 号染色体的长臂,属于常染色体显性遗传,一般情况下不会发生变化^[11]。有研究表明,急性髓系白血病患者处于其病情发作期可能出现红细胞血型抗原减弱、消失或变异,其原本的 ABO 血型抗原无法正常检出,导致 ABO 正/反定型不一致,极易引起血型误判,影响输血安全^[12]。近年来,分子生物学基因分型技术、血型基因甲基化检测技术在 ABO 疑难血型鉴定中的广泛应用,其将新技术与传统血型血清学鉴定技术相结合,

可快速、准确地鉴定疑难 ABO 血型,并且进一步合理解释疾病状态下抗原减弱的原因,为更加安全、合理地解决临床疑难血型鉴定问题提供了新思路。

本例患者使用微柱凝胶法进行 ABO 血型鉴定试验结果显示,正定型结果为 O 型,反定型结果为 A 型,正反定型结果不一致。排除微柱凝胶卡、反定型试剂、离心设备运行及其他人为因素的干扰后采用试管法分别于室温、4℃和 37℃条件下重复 ABO 正反定型试验,结果显示,3 个温度下正定型均为 O 型,而反定型在 4℃时试管法可见 A1c 凝集,推测患者产生不规则抗-A1 抗体。微柱凝胶法进行不规则抗体筛查和试管法进行直接抗人球蛋白试验结果均为阴性,排除是自身抗体造成的 ABO 正反定型不符^[13]。结合患者处于白血病发作期,其 ABO 血型鉴定正反定型不符可能是红细胞本身所致,经吸收放散试验后检出患者红细胞表面存在弱 A 抗原。基于血液免疫学检测试验,由白血病疾病状态下导致受试者 A 抗原减弱与 ABO 亚型引起的红细胞抗原数量减少的试验检测结果较为相似,难以鉴别,需进一步结合其他检测技术加以鉴别。本研究使用分子生物学血型基因分型 PCR-SSP 法进行检测,本例患者 ABO 基因分型结果为 AO1,表型为 A 型,即可排除 ABO 亚型的可能,而其正定型结果为弱 A 表型,有研究在髓系恶性肿瘤^[4]、骨髓增生异常综合征^[14-15]、急性髓系白血病^[15-16]、慢性粒细胞白血病^[17]、膀胱癌^[18]和口腔癌^[8,19]等患者中均检测到 ABO 抗原减弱的现象,与本研究结果一致。

目前,对于血型抗原减弱的确切原因尚未明确,且患者出现 ABO 抗原减弱的现象不是持续的,在疾

病缓解后还有可能恢复血型抗原表达^[20]。推测为机体在白血病状态下的 ABO 基因表达调控机制发生了改变,而这种调控机制目前尚未明确。近年来,甲基化已成为肿瘤研究的热点,甲基化是一种表观遗传修饰方式,参与机体疾病状态下的基因表达调控。有研究发现,白血病患者 ABO 抗原减弱与 DNA 甲基化导致 ABO 基因沉默的关系更为密切^[18]。基于此,推测患者 ABO 基因启动子区 CpG 岛甲基化状态的异常可能与其 A 抗原表达减弱有关。本研究对患者标本 ABO 基因启动子区 175、160 bp 2 个区域甲基化状态进行检测,结果显示,检测区域患者标本 ABO 基因启动子区甲基化率为 66.7%,明显高于随机选取的 5 例正常对照组标本平均甲基化率(<25%),差异有统计学意义($P<0.05$)。有研究表明,ABO 基因启动子 CpG 岛甲基化程度与 ABO 抗原表达呈负相关,甲基化程度越高 ABO 基因表达越不活跃,从而导致 A、B 抗原表达均减少^[5,8,18];且白血病患者存在不同程度 A、B 抗原减弱^[21],与本研究结果一致。提示患者白血病状态下 ABO 基因启动子区甲基化程度增高可能与 ABO 抗原减弱之间存在较为密切的相关性,因机体抗原减弱的调控机制是多因素共同作用的结果,而 ABO 启动子甲基化导致的基因表达下调仅可能只是 ABO 抗原减弱的其中一个因素,其机制还需进一步探索。

本研究结果提示,本例白血病患者在疾病发作期,其 ABO 基因启动子区甲基化状态异常可作为导致 ABO 抗原减弱的重要因素之一,从而干扰 ABO 正反定型鉴定。在临床输血实践中开展血清学疑难血型鉴定的同时进行分子生物学基因分型和血型基因甲基化检测可作为血清学方法的有效辅助手段,有效缩短了输血相容性试验检测时间,保障临床输血安全、合理、有效,为实现患者个体化血液管理、做到精准输血提供了新思路。

参考文献

[1] IMAI Y, MARU Y, TANAKA J. Action mechanisms of histone deacetylase inhibitors in the treatment of hematological malignancies[J]. *Cancer Sci*, 2016, 107(11): 1543-1549.

[2] BOYIADZIS M, WHITESIDE T L. The emerging roles of tumor-derived exosomes in hematological malignancies[J]. *Leukemia*, 2017, 31(6): 1259-1268.

[3] 张勇, 刘剑荣, 陈华良, 等. 1 例疑难血型 and 疑难配血分析[J]. *实验与检验医学*, 2015, 33(3): 389-390.

[4] BIANCO T, FARMER B J, SAGE R E, et al. Loss of red cell A, B, and H antigens is frequent in myeloid malignancies[J]. *Blood*, 2001, 97(11): 3633-3639.

[5] BIANCO-MIOTTO T, HUSSEY D J, DAY T K, et al. DNA methylation of the ABO promoter underlies loss of ABO allelic expression in a significant proportion of leu-

kemic patients[J]. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4788.

[6] NIKPAY M, RAVATI S, MCPHERSON R. Genome-wide screening identifies DNA methylation sites that regulate the blood proteome[J]. *Epigenomics*, 2022, 14(13): 10-15.

[7] SHAO M, LYU X P, TANG P, et al. Comparison of weak ABO antigen and normal ABO antigen in patients with acute leukemia[J]. *J Exp Hematol*, 2017, 25(5): 1307-1313.

[8] POKALA A, PARAMKUSAM G, TEJASWI M L A, et al. Histo-blood group antigens in oral cancer and potentially malignant disorders[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2020, 21(4): 1163-1166.

[9] 尚红, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检测操作规程[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2015: 118-143.

[10] 李勇, 马学严. 实用血液免疫学: 血型理论和实验技术[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 588-701.

[11] 刘墅竹, 姜琪, 卢宝卫. 急性白血病引起 B 型血型抗原减弱报告[J]. *实用医技杂志*, 2006, 13(20): 3717.

[12] 霍姿含, 孙长杰, 刘冰. 22 例 ABO 血型抗原减弱的血清学表现及原因分析[J]. *中国实验诊断学*, 2018, 22(3): 510-511.

[13] 夏荣, 张琦, 陈勤奋. 自身免疫性溶血性贫血患者输血前试验及临床输血专家共识[J]. *中国输血杂志*, 2017, 30(7): 663-665.

[14] 朱剑荧, 胡利亚, 兰炯采, 等. 骨髓增生异常综合征 ABO 血型鉴定观察[J]. *临床血液学杂志(输血与检验版)*, 2007, 20(8): 173-174.

[15] ORAZI A. Histopathology in the diagnosis and classification of acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, and myelodysplastic/myeloproliferative diseases[J]. *Pathobiology*, 2007, 74(2): 97-114.

[16] SHAO M, LYU X P, YANG Q K, et al. Effects of DNA methylation on ABO gene expression in leukemia[J]. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*, 2016, 37(9): 795-799.

[17] SHAFIQ M, KARIM F. Red cell antigen loss in a patient with chronic myeloid leukemia: a case of ABO discrepancy[J]. *Transfus Apher Sci*, 2015, 52(1): 103-104.

[18] CHIHARA Y, SUGANO K, KOBAYASHI A, et al. Loss of blood group A antigen expression in bladder cancer caused by allelic loss and/or methylation of the ABO gene[J]. *Lab Invest*, 2005, 85(7): 895-907.

[19] MORTAZAVI H, HAJIAN S, FADAVI E, et al. ABO blood groups in oral cancer: a first case-control study in a defined group of Iranian patients[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(3): 1415-1418.

[20] 侯瑞琴, 杨洪燕, 苗天红, 等. 422 例 ABO 正反定型不符的原因分析及处理对策[J]. *中国输血杂志*, 2016, 29(5): 509-511.

[21] 徐华, 鲍国强, 王宝燕, 等. ABO 基因启动子 CpG 岛甲基化与白血病的相关性[J]. *中国实验血液学杂志*, 2008, 16(2): 240-246.