

DNA 甲基化对白血病 ABO 基因表达的影响

邵明 吕先萍 杨乾坤 朱伟涛 宋婕 孔永奎 王静 孙玲 王芳

【摘要】 目的 探讨白血病 ABO 基因启动子区 CpG 岛甲基化对 ABO 基因表达的影响。方法 以 25 例白血病患者及 20 名健康对照者为研究对象,同时以不同浓度去甲基化药物地西他滨处理白血病细胞株 K562、HL-60 和 Jurkat 细胞,采用序列特异性引物 PCR(PCR-SSP)法检测 ABO 基因分型,采用实时荧光定量 PCR 法检测 ABO mRNA 表达,采用亚硫酸氢盐测序法检测 ABO 基因启动子区 CpG 岛甲基化情况。**结果** ①急性淋巴细胞白血病例(10 例)和急性髓系白血病例(10 例) ABO 基因启动子平均甲基化率分别为 53.85% 和 18.22%,明显高于健康对照组(20 名, 2.33%)和慢性髓性白血病例(5 例, 2.12%)。②K562 细胞的 ABO 基因型为 O_1O_1 , 药物作用前后 ABO 基因型变化不大;HL-60 和 Jurkat 细胞药物作用前基因型无法辨认,药物作用后 ABO 基因型为 O_1A_1 和 A_1O_2 。③K562 细胞 ABO mRNA 相对表达水平为 $1\ 275.67 \pm 35.86$,明显高于 HL-60 和 Jurkat 细胞(0.54 ± 0.07 和 0.82 ± 0.16) (P 值均 < 0.05)。④K562、HL-60、Jurkat 细胞 ABO 基因启动子区甲基化率分别为 0、58.14% 和 96.74%;与药物作用前比较,随地西他滨浓度增高,HL-60 和 Jurkat 细胞的甲基化水平下降、ABO mRNA 表达水平增高,差异均有统计学意义(P 值均 < 0.05)。**结论** ABO 基因启动子区甲基化水平与急性白血病 ABO 基因表达呈负相关,DNA 甲基化导致 ABO 基因沉默是急性白血病 ABO 抗原表达减弱的重要机制之一。

【关键词】 DNA 甲基化; 白血病; ABO 血型系统; 启动区, 遗传

基金项目:河南省教育厅科学技术研究重点项目(13A320431)

Effects of DNA methylation on ABO gene expression in leukemia Shao Ming, Lyu Xianping, Yang Qiankun, Zhu Weitao, Song Jie, Kong Yongkui, Wang Jing, Sun Ling, Wang Fang. The First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China
Corresponding author: Sun Ling, Email: 6686@126.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the impact of promoter CpG island methylation on ABO mRNA expression in leukemia. **Methods** 25 cases of leukemia and 20 cases of normal control were studied, and the leukemia cell lines K562、HL-60 and Jurkat were treated with different concentrations of decitabine. PCR-SSP was used to identify ABO genotype, RQ-PCR for ABO mRNA expression and bisulfite sequencing PCR for DNA methylation status. **Results** ①The methylation of ABO promoter in acute myeloid leukemia patients (10 cases) and acute lymphoblastic leukemia patients (10 cases) were 53.85% and 18.22% respectively, which were obviously higher than those in control (20 cases, 2.33%) and chronic myeloid leukemia patients (5 cases, 2.12%). ②ABO genotype of K562 was O_1O_1 , which has changed little before and after decitabine treatment. ABO genotype of HL-60 and Jurkat could not be identify before treatment, but showed as O_1A_1 and A_1O_2 after treatment. ③ABO mRNA expression of K562 was $1\ 275.67 \pm 35.86$, which was obviously higher than that in HL-60 (0.54 ± 0.07 , $P < 0.05$) and Jurkat (0.82 ± 0.16 , $P < 0.05$). ④The methylation of ABO promoter in K562, HL-60 and Jurkat were 0, 58.14%, and 96.74%. As concentration of decitabine increased, the methylation of ABO promoter were decreased and the expressions of ABO mRNA were increased in HL-60 and Jurkat, which had significant differences compared with that before treatment ($P < 0.05$). **Conclusion** The methylation of ABO promoter shows a negative correlation with ABO mRNA expression. DNA methylation was an important aspect of ABO antigens decrease in acute leukemia.

【Key words】 DNA methylation; Leukemia; ABO Blood-Group System; Promoter regions, genetic

ABO血型系统是人类发现的第一个具有重大意义的血型系统,其表型是由正反定型两者决定的。但是,很多急性白血病患者出现ABO抗原减弱的现象,导致ABO血型正反定型不符,患者ABO血型无法定型。其机制可能与ABO基因启动子区CpG岛DNA甲基化导致的ABO基因沉默有关,ABO基因启动子甲基化程度越高,ABO基因的表达就越低,从而导致A、B抗原的表达量减少^[1-2]。在本研究中我们对白血病患者和白血病细胞株进行ABO基因型、ABO mRNA及其启动子区CpG岛甲基化程度的检测,旨在探讨白血病ABO基因启动子区CpG岛甲基化对ABO基因表达的影响。

对象与方法

1. 研究对象:以2015年1月至9月在我院诊治的25例初治白血病患者为研究对象,男11例,女14例,中位年龄22(2~56)岁。参照《血液病诊断及疗效标准》^[3]中相关标准进行诊断。25例患者中慢性髓性白血病(CML)5例,急性淋巴细胞白血病(ALL)10例(T-ALL 5例,B-ALL 5例),急性髓系白血病(AML)10例(M₂ 5例,M₃ 5例)。以20名正常人为健康对照,其中男8名,女12名,中位年龄24(18~32)岁。白血病细胞株K562、HL-60和Jurkat细胞均由郑州大学干细胞中心提供。

2. ABO血型检查:采集患者及健康对照者肘静脉血3 ml,全自动血型仪(美国Bio-Rad公司产品)检测ABO血型。

3. 细胞培养及分组:K562、HL-60和Jurkat细胞培养于含10%小牛血清、100 U/ml青/链霉素的RPMI 1640培养基中,37℃、5%CO₂、饱和湿度孵箱中培养,1~2 d换液1次,取对数生长期细胞进行后续实验。实验分为9组,分别为K562、HL-60和Jurkat细胞0、1、10 μmol/L地西他滨(西安杨森制药有限公司产品)作用组。调整细胞密度为1×10⁶/ml,将不同浓度的地西他滨作用于细胞,使其终浓度分别为1、10 μmol/L,0 μmol/L地西他滨作用组为对照组,加入等体积培养基,48 h后收集细胞。

4. RNA和cDNA提取:总RNA提取试剂盒、AMV第一链cDNA合成试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司。收集各组细胞并调整细胞密度为5×10⁶/ml,按照说明书进行细胞总RNA的抽提和cDNA反转录,-20℃保存备用。

5. 采用序列特异性引物PCR(PCR-SSP)法检测

ABO基因分型:采用人类ABO血型基因检测试剂盒(购自天津市秀鹏生物技术开发有限公司)检测对照组及10 μmol/L地西他滨作用组细胞的ABO基因型。试剂盒检测位点包括O₁、O₂、A₁、A₂和B,内参对照为人类生长激素基因(HGH)的保守片段。严格按试剂盒说明书进行操作,凝胶图像分析仪(英国Syngene公司产品)下观察并拍照分析结果。参照表1进行基因分型判断。

表1 人类ABO血型基因分型参照表

孔位	扩增产物(bp)	孔位阳性结果代表的基因型
1	196	O ₁
2	196	O ₂ 、B、A ₁ 、A ₂
3	220	O ₂
4	220	O ₁ 、B、A ₁ 、A ₂
5	246	B
6	246	A ₁ 、A ₂ 、O ₁ 、O ₂
7	155	A ₂
8	155	A ₁ 、B、O ₁ 、O ₂

6. 实时荧光定量PCR(RQ-PCR)法检测ABO mRNA表达:总RNA提取试剂盒、AMV第一链cDNA合成试剂盒购自生工生物工程(上海)股份有限公司。收集各组细胞并调整细胞密度为5×10⁶/ml,按照说明书提取各组细胞总RNA,逆转录合成cDNA。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。ABO基因上游引物:5'-TTGTTTGGTTACGGGGTCC-3',下游引物:5'-GATGTCGATGTTGAATGTGCC-3',扩增片段长度222 bp,定位在ABO基因第7外显子;β-actin上游引物:5'-TAGTTGCGTTACACCCTTTCTTG-3',下游引物:5'-TCACCTTCACCGTTCCAGTTT-3',扩增片段为151 bp。PCR体系共20 μl,包括cDNA 2.0 μl,上下游引物各1.0 μl,SYBR Green PCR Master Mix 10 μl,余用无RNA酶水补足。PCR扩增条件:95℃预变性3 min,95℃ 15 s,60℃ 40 s,共40个循环。实验重复3次,利用各自的标准曲线分别对样品中的目的基因和内参基因进行定量,采用2^{-ΔΔCt}法进行相对定量分析,以目的基因与β-actin的比值表示其相对表达水平。

7. 亚硫酸氢盐测序法检测ABO基因启动子甲基化:从MethDB数据库中选取ABO基因启动子中富含CpG位点的区域,其基因片段中含有43个CpG位点,分别编号为1~43,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:5'-

TGAGAGATATTAGGAAAAGTAGGAAG-3',下游引物序列:5'-CCRCAACCTATAACCCTCCAAC-3',扩增片段为379 bp。

不同浓度的地西他滨作用48 h后,应用DNA提取试剂盒抽提各组细胞基因组DNA,应用紫外分光光度计测量吸光度(A)值,确定其纯度。将DNA产物经过亚硫酸氢钠修饰,使未甲基化的胞嘧啶(C)转化成胸腺嘧啶(T),而甲基化的胞嘧啶不变。PCR扩增修饰后的基因组DNA,PCR体系50 μ l,包括亚硫酸氢钠修饰后DNA模板3 μ l,上下游引物各1 μ l,dNTP 1 μ l,10 \times PCR缓冲液5 μ l,Taq酶0.8 μ l,余用双蒸水补足。PCR条件:98 $^{\circ}$ C预变性4 min,94 $^{\circ}$ C 45 s,66 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,20个循环;94 $^{\circ}$ C 45 s,56 $^{\circ}$ C 45 s,72 $^{\circ}$ C 1 min,共20个循环,72 $^{\circ}$ C延伸8 min。将PCR产物行30 g/L琼脂糖凝胶电泳,并将产物切胶后纯化回收,PCR纯化产物连接到pUC18-T载体,4 $^{\circ}$ C连接过夜。将连接产物转化感受态细胞,涂氨苄青霉素平板,37 $^{\circ}$ C孵育过夜,经蓝白斑筛选,挑取白色菌落至含氨苄青霉素的液体培养基,37 $^{\circ}$ C水平振荡12 h,提取其质粒,琼脂糖凝胶电泳PCR鉴定阳性重组子,并送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。DNA提取试剂盒、PCR产物纯化回收试剂盒、质粒抽提试剂盒、感受态细胞制备试剂盒均购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

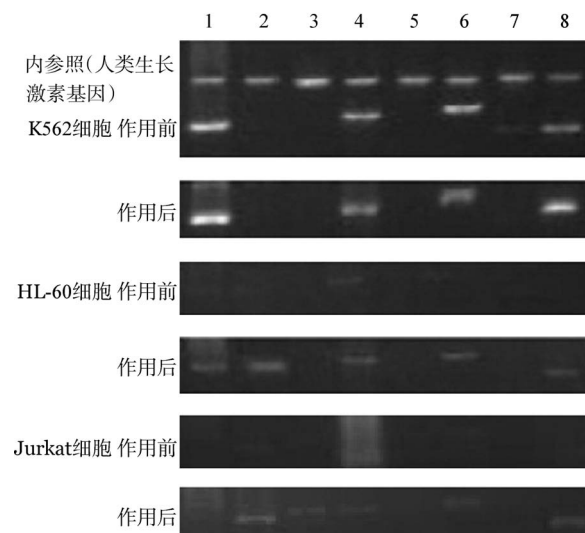
8. 统计学处理:采用SPSS17.0软件进行统计学分析。每组设3个复孔,实验重复3次,数据以均数 \pm 标准差表示,差异性分析采用独立样本*t*检验,多样本差异性分析采用方差分析,进一步两两比较采用LSD-*t*检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 白血病患者ABO基因启动子甲基化状态:健康对照组、CML、ALL和AML组ABO基因启动子平均甲基化率分别为2.33%、2.12%、53.85%和18.22%,ALL和AML组甲基化率高于健康对照组和CML组,后两组甲基化率接近,ALL组较AML组甲基化率高。B-ALL组与T-ALL组甲基化率接近,分别为54.07%和52.97%。AML-M₂组与AML-M₃组甲基化率接近,分别为21.32%和15.12%。25例白血病患者中全自动血型鉴定仪检测出抗原减弱者2例,均为AML-M₂患者,甲基化率为49.61%,明显高于抗原未减弱者(11.89%)。

2. 不同白血病细胞株细胞的ABO基因型:

K562细胞的ABO基因型为O₁O₁,加入地西他滨(10 μ mol/L)前后ABO基因型变化不大。HL-60和Jurkat细胞药物作用前条带亮度非常弱,基因型几乎无法辨认,加入地西他滨(10 μ mol/L)后条带亮度增加,ABO基因型显示为O₁A₁和A₁O₂(图1)。



1~8: 分别为人类ABO血型基因检测试剂点样孔位。1: O₁孔位; 2: O₂、B、A₁、A₂孔位; 3: O₂孔位; 4: O₁、B、A₁、A₂孔位; 5: B孔位; 6: A₁、A₂、O₁、O₂孔位; 7: A₂孔位; 8: A₁、B、O₁、O₂孔位

图1 序列特异性引物PCR法检测地西他滨(10 μ mol/L)作用后对白血病细胞株ABO基因型的影响

3. 不同白血病细胞株细胞的ABO mRNA表达:地西他滨作用前,K562细胞ABO mRNA相对表达水平为1 275.67 \pm 35.86,明显高于HL-60细胞的0.54 \pm 0.07和Jurkat细胞的0.82 \pm 0.16(P 值均 <0.01),而HL-60和Jurkat细胞组差异则无统计学意义($P>0.05$);1、10 μ mol/L地西他滨作用后,HL-60和Jurkat细胞组ABO mRNA的表达水平明显高于对照组(0 μ mol/L地西他滨作用组)(P 值均 <0.05),K562细胞与对照组差异无统计学意义(P 值均 >0.05)(表2)。进一步行1、10 μ mol/L地西他滨作用组间比较,K562、HL-60细胞两浓度组ABO mRNA的表达水平差异均无统计学意义(P 值均 >0.05),Jurkat细胞两浓度组差异有统计学意义($P<0.05$)(表2、图2)。

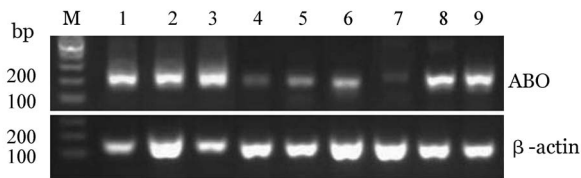
4. 不同白血病细胞株细胞ABO基因启动子CpG岛甲基化状态:结果显示ABO基因启动子43个CpG岛中,K562细胞在加入地西他滨前后均未发生甲基化;Jurkat细胞未加药组则呈现超甲基化状态,甲基化率达96.74%,1、10 μ mol/L地西他滨作用组甲基化率分别为84.18%和68.37%,明显低于未

表2 实时荧光定量PCR法检测不同浓度地西他滨作用48 h后对白血病细胞 ABO mRNA 表达水平的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	地西他滨作用浓度		
	0 $\mu\text{mol/L}$	1 $\mu\text{mol/L}$	10 $\mu\text{mol/L}$
K562 细胞组	1 275.67 \pm 35.86	1 320.36 \pm 13.95	1 369.90 \pm 109.70
HL-60 细胞组	0.54 \pm 0.07 ^a	2.93 \pm 0.81 ^{ab}	4.42 \pm 0.82 ^{ab}
Jurkat 细胞组	0.82 \pm 0.16 ^a	4.10 \pm 0.34 ^{ab}	15.51 \pm 0.96 ^{abc}

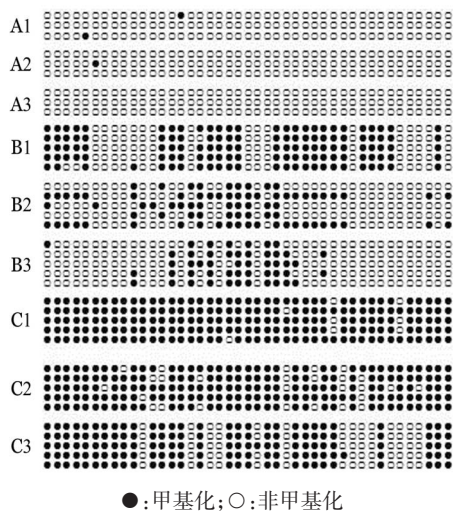
注:a:与K562细胞组比较, $P<0.01$;b:与0 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨作用组(对照组)比较, $P<0.05$;c:与1 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨作用组比较, $P<0.05$ 。每组设3个复孔,实验重复3次

加药组($P<0.05$),地西他滨两个浓度组比较差异也有统计学意义($P<0.05$);HL-60细胞未加药组甲基化率为58.14%,1、10 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨作用组甲基化率分别为35.35%和22.33%,明显低于未加药组($P<0.05$),但地西他滨两个浓度组比较差异无统计学意义($P>0.05$)(图3)。



M:Marker;1~3:分别为K562细胞0、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨作用组;4~6:分别为HL-60细胞0、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨作用组;7~9:分别为Jurkat细胞0、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨作用组

图2 实时荧光定量PCR法检测不同浓度地西他滨作用48 h后对白血病细胞 ABO mRNA 表达的影响



A: K562 细胞;B: HL-60 细胞;C: Jurkat 细胞;1、2、3 分别为 0、1、10 $\mu\text{mol/L}$ 地西他滨作用组

图3 亚硫酸氢盐测序法检测不同浓度地西他滨作用48 h后白血病细胞 ABO 基因启动子 CpG 岛甲基化状态

讨 论

ABO 血型系统是 1900 年由 Karl Landsteiner 发

现的^[4],是人类发现的第一个具有重大意义的血型系统。人 ABO 血型由体内 ABO 抗原和抗体共同决定,正定型检测红细胞抗原,反定型检测血清中抗体,二者相符才能正确、完整地进行 ABO 血型的定型检测。但在白血病及一些实体瘤患者进行 ABO 血型鉴定时,出现 ABO 抗原改变导致正反定型不相符合的情况,极易引起血型误判,直接关系到临床输血安全。血液系统恶性肿瘤中 ABO 抗原改变最早由 van Loghem 等^[5]于 1957 年报道。随后又有学者陆续报道了在恶性血液病及许多实体瘤如口腔上皮癌、胃癌、胰腺癌、肺癌、膀胱癌中出现 ABO 抗原减弱的现象^[6-10]。并分析可能的机制有 ABO 基因杂合性丢失、基因突变和 DNA 甲基化导致基因沉默^[2,9]。目前研究发现,白血病患者 ABO 抗原减弱与 DNA 甲基化导致 ABO 基因沉默关系更为密切^[2,11]。DNA 甲基化通常发生在富含胞嘧啶和鸟嘌呤的 CpG 二核苷酸(CpG 岛)中的胞嘧啶残基上,生理情况下 CpG 岛多为非甲基化,而在癌变过程中 CpG 岛的甲基化则扮演着重要角色,甲基化程度的高低可能与肿瘤的发生、发展密切相关^[12-13]。ABO 基因启动子区富含 CpG 核苷酸^[14],研究显示在人类癌细胞系和癌症患者中 DNA 甲基化与 ABO 基因表达呈负相关^[2,8-9]。

在本研究中我们对比了 25 例白血病患者与 20 名健康对照者 ABO 基因启动子的甲基化程度,发现 CML 组 ABO 基因启动子平均甲基化率与健康对照组接近,初治 ALL 组和 AML 组均明显高于健康对照组,ALL 组甲基化率明显高于 AML 组。在 25 例急性白血病患者中全自动血型鉴定仪检测出抗原减弱者 2 例,均为 AML-M₂患者,且抗原减弱者甲基化率明显高于抗原未减弱者,提示 AML-M₂患者 ABO 抗原水平与甲基化程度呈负相关。徐华等^[15]研究发现各型血液病患者中 AML 患者 A/B 抗原数量下降程度最大,我们的研究结果与之相符。在本研究中我们未发现 ALL 与 AML-M₃患者有抗原减

弱现象,但其甲基化程度也明显高于健康对照者,而 CML 患者几乎没有甲基化的表现。

在体外实验中,我们检测了 3 种白血病细胞株细胞的 ABO 基因型、ABO mRNA 表达水平以及 ABO 基因启动子甲基化状态。结果显示, K562 细胞基因型为 O₁O₁, ABO 基因启动子均未发生甲基化,且 ABO mRNA 表达水平最高;而 Jurkat、HL-60 细胞则有不同程度的甲基化,基因型检测条带亮度非常弱, ABO mRNA 表达水平极低,此结果与相应的白血病患者原代细胞检测结果相符,加入去甲基化药物地西他滨后,两细胞株细胞的基因型检测条带亮度增强,甲基化水平随地西他滨浓度增高而下降, ABO mRNA 表达水平随地西他滨浓度增高而增高。Hosoi 等^[16]对 27 种白血病细胞株细胞进行检测,显示 CML 细胞株 K562 细胞和 KOPM-28 细胞均高表达 ABO mRNA,明显高于其他髓系和淋巴细胞白血病细胞株; Bianco-Miotto 等^[2]对 6 种白血病细胞株细胞进行甲基化和 ABO 基因型的检测,结果显示,除 K562 细胞为非甲基化外,其余 5 种细胞株均有甲基化, Jurkat 细胞应用去甲基化药物后方可检测出 ABO 基因型为 O₁O₂。我们在研究中加入去甲基化药物地西他滨后,检测到 Jurkat 细胞 ABO 基因型为 A₁O₂,与 Kominato 等^[11]的研究结果相符。HL-60 细胞在各文献中未见相关 ABO 基因型的报道。

综上,白血病 ABO 抗原表达水平与 ABO 基因启动子区 CpG 岛甲基化程度密切相关,但是 DNA 的甲基化作为影响细胞内基因转录最重要的表观遗传学机制,是不断动态变化的,并对环境的影响非常敏感,因此不同患者和细胞的甲基化状态有很大的异质性。而且在临床中我们发现白血病患者 ABO 抗原减弱的现象出现最多的是 AML^[15]。在本研究中,我们发现 ALL 患者原代细胞以及 Jurkat 细胞 ABO 基因启动子甲基化的程度最大,但是 ALL 患者出现 ABO 抗原减弱的数量并没有 AML 患者多; AML 患者 ABO 基因启动子甲基化的程度并不是特别高,不过 AML 抗原减弱的患者 ABO 基因启动子甲基化的程度明显增高。形成此现象的原因以及白血病患者 ABO 基因 CpG 岛甲基化程度与预后的关系,有待我们扩大样本量并追踪其预后,进行更加深入的研究。

参考文献

[1] Daniels G, Reid ME. Blood groups: the past 50 years [J]. *Transfusion*, 2010, 50(2): 281-289. doi: 10.1111/j.1537-2995.2009.02456.x.

- [2] Bianco-Miotto T, Hussey DJ, Day TK, et al. DNA methylation of the ABO promoter underlies loss of ABO allelic expression in a significant proportion of leukemic patients [J]. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4788. doi: 10.1371/journal.pone.0004788.
- [3] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3版. 北京: 科学出版社, 2007: 103-138.
- [4] Aymard JP. Karl Landsteiner (1868 - 1943) and the discovery of blood groups [J]. *Transfus Clin Biol*, 2012, 19(4-5): 244-248.
- [5] VAN LOGHEM JJ Jr, DORFMEIER H, VAN DER HART M. Two A antigens with abnormal serologic properties [J]. *Vox Sang*, 1957, 2(1): 16-24.
- [6] 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. doi: 10.1159/000101709.
- [7] 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. doi: 10.1016/j.transci.2014.11.004.
- [8] 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. doi: 10.1038/labinvest.3700268.
- [9] Dabelsteen E, Gao S. ABO blood-group antigens in oral cancer [J]. *J Dent Res*, 2005, 84(1): 21-28.
- [10] 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.
- [11] Kominato Y, Hata Y, Takizawa H, et al. Expression of human histo- blood group ABO genes is dependent upon DNA methylation of the promoter region [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(52): 37240-37250.
- [12] 王晔恺,周吉航,周世权,等. 急性髓系白血病患者 hPer3 基因启动子甲基化状态及其去甲基化对白血病细胞增殖的影响 [J]. *中华血液学杂志*, 2011, 32(5): 317-321. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2011.05.007.
- [13] Ibragimova I, Dulaimi E, Slifker MJ, et al. A global profile of gene promoter methylation in treatment-naïve urothelial cancer [J]. *Epigenetics*, 2014, 9(5): 760-773. doi: 10.4161/epi.28078.
- [14] Sano R, Nakajima T, Takahashi K, et al. The 3' flanking region of the human ABO histo- blood group gene is involved in negative regulation of gene expression [J]. *Leg Med (Tokyo)*, 2011, 13(1): 22-29. doi: 10.1016/j.legalmed.2010.10.001.
- [15] 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. doi: 10.3969/j.issn.1009-2137.2008.02.002.
- [16] Hosoi E, Hirose M, Hamano S. Expression levels of H-type alpha (1,2)-fucosyltransferase gene and histo-blood group ABO gene corresponding to hematopoietic cell differentiation [J]. *Transfusion*, 2003, 43(1): 65-71.

(收稿日期:2016-02-04)

(本文编辑:刘志红)